ISSN[e] 2244-8888

Pittieria

La Revista del Departamento de Botánica y Ciencias Básicas
Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes

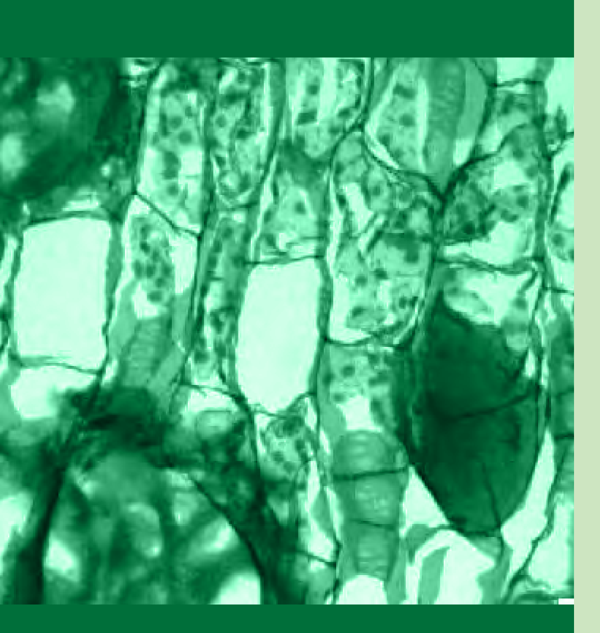
41
ENERO-DICIEMBRE
2017 Año XLV
Nueva Serie



ISSN[e] 2244-8888

Pittieria
41

ENERO-DICIEMBRE
2017 Año XLV
Nueva Serie



REVISTA DEL DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA Y CIENCIAS BÁSICAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y AMBIENTALES DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES (MÉRIDA, VENEZUELA), FUE CREADA CON EL FIN DE DIVULGAR LAS INVESTIGACIONES DE LOS MIEMBROS DE LA INSTITUCIÓN Y ABIERTA A CONTRIBUCIONES DE INVESTIGADORES EXTERNOS. PUBLICA ARTÍCULOS CIENTÍFICOS Y NOTAS TÉCNICAS DE TODOS LOS CAMPOS DE LA BOTÁNICA; HACIENDO ÉNFASIS EN INVESTIGACIONES REALIZADAS EN VENEZUELA. ES UNA PUBLICACIÓN ANUAL EDITADA EN FORMATO IMPRESO Y DIGITAL; EN ESTE ÚLTIMO CASO ES DE ACCESO LIBRE A TRAVÉS:
http://www.saber.ula.ve/pittieria/
http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/pittieria/

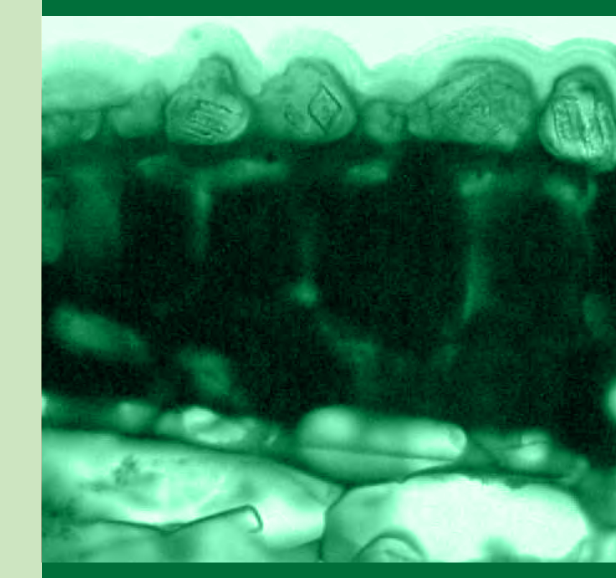
REVENCYT RVP001. LATINDEX.
Periódica (UNAM, México)

El intercambio es bienvenido
Exchange is accepted
Der Austausch ist willkommen
Les échanges sont bienvenus

ISSN 0554-2111 (impreso)
ISSN 2244-8888 (electrónico)
Depósito Legal pp 196702ME558

Este número ha sido publicado gracias al apoyo
de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.





DIRECCIÓN
Departamento de Botánica y Ciencias Básicas
Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales
Conjunto Forestal, Edificio Principal.
Universidad de Los Andes.
Avenida Principal Chorros de Milla
Mérida 5101, Venezuela.
Tel.: +58 274 2401526 — pittieria@ula.ve

Pittieria
ISSN(e) 2244-8888
41
ENERO-DICIEMBRE
2017 Año XLV
Nueva Serie

Contenido



ISSN(e) 2244-8888

XXII CONGRESO VENEZOLANO DE BOTÁNICA

(Maturín, 10-15 de julio de 2017)

por
WILLIAMS LEÓN

El 2017 fue un año donde nuevamente se dieron cita los investigadores del área de la botánica y otras ciencias relacionadas para exponer y compartir los resultados de muchas investigaciones que se realizan en numerosas instituciones públicas y privadas de Venezuela. A pesar de los conflictos políticos, sociales y económicos; la continuidad del Congreso Venezolano de Botánica se ha mantenido y desde esa primera edición realizada en Caracas en 1971, bajo la dirección del Dr. Leandro Aristeguieta, ya se han realizado 22 encuentros donde cada dos años se dan cita científicos nacionales e internacionales con el fin de divulgar parte de su quehacer científico. Por segunda vez, la ciudad de Maturín se encargó de albergar a todos los participantes en este gran evento y en esta oportunidad, correspondió a la Universidad Bolivariana de Venezuela la organización del XXII Congreso Venezolano de Botánica bajo la coordinación general del Profesor Miguel A. Sánchez M.

Se presentaron un total de 102 avances científicos distribuidos en las siguientes áreas:

a) Agronomía, Biología Molecular y Genética Vegetal (7 ponencias)
b) Biodiversidad, Conservación de Ecosistemas, Educación y Gestión Ambiental (13 ponencias)
c) Biotecnología, Fisiología Vegetal y Fitopatología (14 ponencias)
d) Botánica Criptogámica (21 ponencias)
e) Botánica Estructural (8 ponencias)
f) Ecología Vegetal, Agroecología y Ecofisiología (6 ponencias)
g) Etnobotánica, Botánica Indígena y Desarrollo Comunitario (16 ponencias)
h) Sistemática y Florística (17 ponencias).

Además de ello, se presentaron 22 trabajos en los simposios de Agroecología y Biotecnología (7 ponencias), Etnobiología y Etnoecología (6 ponencias), Liquenología (4 ponencias) y Morfoanatomía Floral (5 ponencias).

La calidad y originalidad de los trabajos presentados en la XXII edición del Congreso Venezolano de Botánica fue evaluada y avalada por una prestigiosa comisión de arbitraje donde participaron científicos de la Universidad Central de Venezuela, Universidad de Los Andes, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Universidad de Oriente, Universidad Experimental del Táchira, Universidad Politécnica Territorial de Falcón "Alonso Gamero", Universidad Bolivariana de Venezuela, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Fundación Instituto de Estudios Avanzados y el Centro Nacional Para la Conservación de Recursos Fitogenéticos.

Prestigiosos evaluadores, destacados ponentes y una gran organización fue lo que brindó Maturín durante los días comprendidos entre el 10 y 15 de Julio del 2017 y se abrieron las puertas para la próxima cita, la cual tendrá lugar en la ciudad de Cumaná en el año 2019.

La revista *Pittieria*, como medio de divulgación de la investigación botánica, felicita a todas aquellas personas que dieron su aporte para que se realizara con éxito tan importante evento, así como a todos los que buscan mantener la continuidad de una cita bianual que se inició en 1971, que se ha mantenido durante 46 años y que va rumbo a medio siglo de existencia.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria 41

ENERO-DICIEMBRE 2017

págs. 8—23

ASOCIACIÓN ENTRE MICROSATÉLITES Y LA RESISTENCIA A *Phytopthora megasperma*, EN ÁRBOLES DE *Theobroma cacao* L. II. ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN

ASSOCIATION OF MICROSATELLITES WITH THE RESISTANCE TO *Phytophthora megasperma* IN *Theobroma cacao* L. TREES. II. ASSOCIATION ANALYSIS

por

MARÍA MARCANO[1], VÍCTOR MORA[1], RAISA RUMBOS[2], IRAIMA CHACÓN[3], ÁLVARO GÓMEZ[4], ADRIANA MOYA[2] *y* ARGENIS MORA[5]

1 Laboratorio Genética y Química Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. **marseg@ula.ve**

2 Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Local Chama, estado Zulia.

3 CORPOZULIA, Centro Socialista de Investigación y Desarrollo (CESID)-Cacao, estado Zulia.

4 Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Local San Juan de Lagunillas, estado Mérida.

5 Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Forestal (INDEFOR), Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

RECIBIDO: noviembre 04 de 2015 / **ACEPTADO:** mayo 07 de 2016

RESUMEN

La obtención de árboles de cacao más productivos, con mejor comportamiento frente a plagas y enfermedades y que además conserven en sus almendras la calidad excepcional que caracteriza al cacao venezolano, son parámetros considerados cuando se pretende aprovechar el potencial de la diversidad genética de esta especie Una de las limitaciones para el progreso en el mejoramiento genético de cultivos, es el escaso conocimiento sobre el determinismo genético de los caracteres de interés. Los estudios de asociación entre marcadores moleculares y caracteres de interés se basan en la relación no aleatoria entre alelos o desequilibrio del ligamiento, que persiste en una población a pesar de ciclos de recombinación y que pueden ser empleados para cartografiar caracteres de selección. En el presente trabajo se valida la posibilidad de encontrar asociaciones entre marcadores moleculares y la resistencia a *P. megasperma*, en una población no estructurada de 42 árboles de cacao Criollo Moderno, basándonos en su genotipo para 8 marcadores microsatélites ubicados en las zonas de resistencia a *Phytophthora* reportadas y en la reacción de resistencia o susceptibilidad a *P. megasperma* de cada árbol, empleando tablas de contingencia y pruebas de *Xi2*. El análisis de asociación detectó 5 microsatélites asociados con la resistencia, mTcCIR17 (GL 4), mTcCIR189 (GL8), mTcCIR8 (GL 9), mTcCIR229 y mTcCIR223 (GL 10), los cuatro primeros reportados como ligados a la resistencia a diversas especies de *Phytophthora* en distintas progenies de cacao y en regiones coincidentes con genes RGA y GDA y el último asociado al color del cotiledón.

PALABRAS CLAVE: *Theobroma cacao*, resistencia a *Phytophthora megasperma*, análisis de asociación, microsatélites.

ABSTRACT

A challenge for the venezuelan cocoa breeding is to select highly productive trees, with a good performance against pests and diseases, whilst preserving the exceptional quality that characterizes the venezuelan cocoa beans. The achievement of these goals greatly depends on the knowledge and management of the genetic diversity of the Criollo cultivars. One of the main limitations to further progress in the genetic improvement of crops is the scarce knowledge on the genetic determinants of traits of interest. Association studies between molecular markers and important traits are based on the non-random relationships between alleles, or linkage disequilibrium, which persist in a population despite recombination cycles therefore, they can be used to map selection traits. The present research validates the likelihood of finding associations between microsatellite markers and the resistance to *Phytophthora megasperma.* The study was carried out in a non-structured population of 42 Modern Criollo cacao trees, based on their genotype for 8 microsatellite markers located in known regions of resistance to *Phytophthora* species and the reaction of resistance or susceptibility of each tree to *P. megasperma*, using contingency tables and *Xi2* tests. The association analysis detected 5 microsatellites associated to the resistance, mTcCIR17 (LG 4), mTcCIR189 (LG8), mTcCIR8 (LG 9), mTcCIR229 and mTcCIR223 (LG 10), the first four markers reported are linked to the resistance of different cocoa progenies to several species of *Phytophthora* and coinciding with regions of RGA and GDA genes, whilst the latter is associated to cotyledon colour.

KEY WORDS: *Theobroma cacao*, *Phytophthora megasperma* resistance, association analysis, microsatellites.

INTRODUCCIÓN

La apreciada calidad del cacao Criollo venezolano, le brinda un sitio en el mercado internacional con potencial de expansión, dadas las tendencias mundiales de crecimiento en el consumo de cacao. Venezuela posee las condiciones agroecológicas requeridas para el cultivo y además, en nuestro país pueden aún encontrarse materiales genéticos que producen granos de óptima calidad aromática y que son escasos en el mundo (Marcano, 2007). Actualmente son múltiples los problemas que afectan la productividad de nuestro cacao, siendo muy pequeño su aporte a la producción mundial (ICCO 2012).

La selección de genotipos altamente productivos, que conserven las calidades aromáticas de los cacaos Criollos y que además puedan portar genes de resistencia a las enfermedades y plagas más importantes en el país, serían objetivos importantes para programas de mejoramiento del cultivo (Marcano, 2007).

Las estrategias tradicionales de mejoramiento de un cultivo perenne, como el cacao, son esfuerzos de muy largo plazo; sin embargo, individuos excepcionales pueden ser seleccionados y liberados en cualquier fase. La posibilidad de que el cacao pueda ser propagado por injerto, estacas y mediante las más recientes técnicas de propagación rápida (Sodré *et al*., 2006), e incluso el cultivo *in vitro* (Maximova *et al*., 2006), representa una gran ventaja.

Las herramientas de la genómica abren una posibilidad para el entendimiento del determinismo genético de los factores involucrados en los parámetros que constituyen criterios importantes de selección, ofreciendo algunas alternativas que pueden ser de utilidad para acelerar el desarrollo de poblaciones mejoradas (INGENIC, 2000).

La elaboración de mapas genéticos saturados de los cultivos en los cuales se incluyen marcadores genéticos de diversa índole y caracteres de interés, es una estrategia con posibles aplicaciones en lo que se ha denominado la Selección Asistida por Marcadores Moleculares, con la que potencialmente pueden seleccionarse a muy temprana edad, las plantas que portan los alelos que se hayan relacionado con el mejor comportamiento, ya sea en caracteres morfoagronómicos o de calidad, lo que haría más precisa la selección y reduciría costos en el proceso; ello toma mayor importancia en los caracteres de herencia compleja y más aún en cultivos perennes (Tanksley *et al*., 1988).

El CIRAD (*Centre de Cooperation Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement*) ha desarrollado un mapa genético de referencia para el cacao a partir de la población segregante originada a partir del cruce de los parentales heterocigotos UPA402 (Forastero del alto Amazonas obtenido del cruce entre IMC60 y Na34) y UF676 (Trinitario seleccionado en Costa Rica) y saturado con 615 marcadores codominantes incluyendo isoenzimas, RFLPs y microsatélites cartografiados (Pugh *et al*., 2004), que constituyen excelentes herramientas para diversos tipos de investigaciones, entre las cuales destaca la utilización de éstos para el estudio de determinismo genético de caracteres de importancia.

Los métodos clásicos para la identificación de marcadores moleculares ligados a caracteres de interés, entre los cuales los de mayor importancia son los caracteres cuantitativos, exigen la disponibilidad de una población segregante, preferiblemente proveniente de padres genotipicamente definidos, a la cual se analiza para la mayor cantidad de marcadores posible y a la vez se evalúa en su fenotipo para parámetros de interés, para los que debe también ser polimórfica. Este procedimiento, denominado análisis de QTLs “Quantitative Trait Loci”, que son cada uno de los loci que determinan un carácter cuantitativo, busca detectar relaciones estadísticamente significativas entre un marcador y un carácter. Sin embargo, en casos en los que no existen estas poblaciones experimentales, o éstas son difíciles de desarrollar por razones prácticas, también es posible llevar a cabo el análisis de QTLs, como en el caso de poblaciones naturales, como las especies arbóreas perennes, o las poblaciones humanas (Liu, 1998).

Los estudios de asociación se basan en la relación no aleatoria de alelos en una población, lo que es conocido como Desequilibrio del Ligamiento (DDL) (Weir, 1996). Para realizar un estudio de asociación, es necesario conocer como es el DDL en la población y en la región de interés del genoma. Debe determinarse no sólo si éste existe y su magnitud, sino su caída, es decir, el trayecto del cromosoma en el que se pierde la relación entre los alelos, lo que puede analizarse, en una región en particular, o de manera general en todo el genoma. La caída del DDL determina el tamaño mínimo de cromosoma en el que éste es conservado.

Los análisis del DDL en el genoma del cacao han revelado largos fragmentos de cromosomas (hasta 30 cM) que se encuentran en DDL, en los cuales podrían definirse asociaciones estables entre marcadores moleculares y caracteres de interés (Marcano *et al*., 2007).

La cartografía genética por asociación, busca aprovechar las asociaciones no aleatorias que se establecen entre alelos de diferentes loci, ligados o no, (DDL) a través de la historia de una población, para encontrar relaciones entre marcadores y caracteres, que se hayan mantenido a pesar de varios ciclos de recombinación. Con ello, se puede lograr la cartografía genética de caracteres de interés en poblaciones naturales con mejor resolución que en poblaciones experimentales; es, sin embargo importante, que la población no presente estructura (Jannink y Walsh, 2002).

La asociación entre marcadores moleculares y caracteres de importancia para la selección de cacao ya ha probado ser una estrategia eficiente, en comparación con los métodos tradicionales de análisis de Loci determinantes de caracteres Cuantitativos (QTLs), que implican la obtención de poblaciones experimentales provenientes de cruces dirigidos entre padres específicos, lo que puede tardar unos diez años en el caso del cacao (Schnell *et al*. 2005; Marcano *et al*., 2007, 2008).

Phytophthora palmivora es una de las enfermedades de mayor impacto en las plantaciones de cacao del mundo y ha sido la más estudiada en cuanto a la detección de QTLs (Loci de caracteres Cuantitativos) implicados en la resistencia a la misma; estos estudios han sido realizados a partir de mazorcas enfermas y discos de hoja, en progenies de mapeo diversas (N’Goran *et al*., 1997; Clément *et al*., 2003; Risterucci *et al*., 2004).

La resistencia a *Phytophthora* ha sido relacionada con varios genes, este es el caso de *P. megasperma* f.sp. glycinea en soya (Diers *et al.*, 1992) y de *P. infestans* en papa, aunque en este cultivo también se ha informado de una resistencia vertical (Corné *et al.*, 1991). En el caso del cacao, varios autores han relacionado la resistencia a *Phytophthora* con la presencia de varios genes. Warren (1994) señaló la existencia de un mínimo de cinco loci heterogéneos no ligados. Spence & Bartley (1966) igualmente señalan que algunas progenies F1 del clon SCA 6 que muestran resistencia en Trinidad, son el producto de genes dominantes que controlan esa característica. Enríquez & Salazar (1987) por el contrario, consideran que en la resistencia a *Phytohthora* están en juego varios genes con una acción más aditiva que dominante. En forma similar, Tan & Tan (1990) señalan que la resistencia se hereda en forma aditiva. En general, en los estudios de la resistencia genética del cacao a las enfermedades producidas por especies del género *Phytophthora*, no se ha encontrado una resistencia total a la enfermedad (Risterucci *et al.*, 2003).

En el año 2000 se reporta por primera vez, la ubicación de genes de resistencia a *Phytophthora palmivora* en el genoma del cacao, en una población de cacao Forastero (Crouzillat *et al.*, 2000); estudios posteriores se han hecho en poblaciones de cacao con diversa base genética y varias especies de *Phytophthora* (Flament *et al.*, 2001; Clément, 2003; Risterucci *et al.*, 2003). Algunas de las regiones del genoma identificadas como implicadas en la resistencia han sido coincidentes con genes análogos de resistencia y defensa (RGA y DGA) (Lanaud *et al.*, 2004). En general, estos estudios muestran coincidencia en 4 sitios del genoma, en los grupos de ligamiento 1 (Lanaud *et al.*, 2004; N'Goran *et al.*, 1997), 4 (Clément *et al.*, 2003 y 2004; Lanaud *et al.*, 2004) y 7 (Lanaud *et al.*, 2004, Clément *et al.*, 2004) que potencialmente portan factores genéticos determinantes de la resistencia.

El presente estudio pretende indagar la posibilidad de aprovechar la información generada en diferentes progenies de mapeo de cacao, en relación a la detección de QTLs que determinan la resistencia a especies de *Phytophthora*, estudiando la asociación entre marcadores moleculares localizados en las zonas del genoma donde se han encontrado en forma consistente estos QTLs y la resistencia a *Phytophthora megasperma*, en una población de cacao Criollo moderno no experimental y no estructurada.

MATERIALES Y MÉTODOS

EVALUACIÓN DEL FENOTIPO

La selección de plantas de cacao de la población original, el muestreo de mazorcas a ser sometidas a la evaluación de resistencia, los procedimientos para la preparación del inóculo, la inoculación de las mazorcas con *P. megasperma* y la evaluación de resistencia/susceptibilidad de las plantas al patógeno (fenotipo), son extensamente descritos en Mora *et al.* (2016).

ANÁLISIS DEL GENOTIPO

Las metodologías empleadas para la extracción del ADN, la amplificación de los microsatélites y la electroforesis de microsatélites en geles de poliacrilamida es descrita en Risterucci *et al.* (2000); la visualización de microsatélites mediante la tinción de nitrato de plata se hizo como se reporta en Bassam *et al.* (1991). La lectura e interpretación de geles y el análisis completo del genotipo se presentan en Mora *et al.* (2016). La lista de microsatélites analizados, se presenta en Mora *et al.* (2016), en donde se destacan los microsatélites ubicados en zonas de QTLs y de genes DGA y RGA reportados (Crouzillat *et al.*, 2000; Flament *et al.*, 2001; Clément *et al.*, 2003; Risterucci *et al.*, 2003; Lanaud *et al.*, 2003). El resto de microsatélites analizados se emplearon para el estudio de la estructura de la población.

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA EN LA POBLACIÓN ORIGINAL

La estrategia para analizar la existencia de subpoblaciones (estructura) en la población original (65 individuos) consistió en el análisis de 16 microsatélites no ligados (independientes), con el programa Structure (Pritchard *et al.*, 2000); a partir de éste se puede inferir el número de subpoblaciones (K) que pudieran coexistir en la población estudiada, bajo la presunción de Equilibrio de Hardy y Weinberg en las subpoblaciones. Para ello se consideraron valores alternativos de K, desde 1 al 5, un número de 50.000 iteraciones como períodos de procesamiento, 250.000 repeticiones y 10 análisis independientes, bajo el supuesto modelo de "mezcla de ancestros" ("Admixture").

Este análisis permitió identificar individuos que por su constitución genética, difieren mucho del resto de la población. Por otra parte, se verificó el número de subpoblaciones presentes en la población estudiada y la contribución de cada individuo a la conformación de esas subpoblaciones.

A partir de estos resultados se pudieron seleccionar individuos que en conjunto formarán una población no estructurada y por ende más ajustada para un estudio de asociación entre los marcadores microsatélites y la resistencia a la enfermedad (Cuadro 1).

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN

Tomando en cuenta la información genotípica de cada individuo, así como su nivel de resistencia a la enfermedad, se elaboraron tablas de contingencia utilizando el programa Excel (Microsoft Office Excel vers. 2007), para cada locus de microsatélites analizados. La información compilada en estas tablas fue graficada con el fin de visualizar tendencias de los genotipos más frecuentemente susceptibles o resistentes en la población no estructurada.

La asociación entre marcadores microsatélites y la resistencia a la enfermedad se determinó mediante una Prueba de *Xi2* para el análisis de tablas de contingencia con el método de Pearson, considerando un umbral de significación de $p \leq 0,05$ para cada prueba (loci microsatélites), utilizando el programa XlSTAT 7.5.2 (ADDINSOFT, 2015).

RESULTADOS

ANÁLISIS DEL FENOTIPO Y DEL GENOTIPO

En el artículo complementario al presente (Mora *et al.*, 2016), se muestran en detalle los resultados obtenidos, tanto en la evaluación de la reacción de resistencia/susceptibilidad de las plantas seleccionadas, al patógeno *Phytophthora*

megasperma (fenotipo), como en el análisis de los loci microsatélites analizados (genotipo). Esta información es base para el análisis de asociación entre marcadores microsatélites y la resistencia a *P. megasperma*.

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN Y DEL NÚMERO DE SUBPOBLACIONES

Los resultados obtenidos mediante el programa Structure (Pritchard *et al*., 2000), para el que se emplean datos del genotipo de marcadores no ligados, ni en desequilibrio del ligamiento, revelaron la existencia de 2 subpoblaciones en la población original.

SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN NO ESTRUCTURADA

A partir de la información proporcionada por el programa *Structure*, en relación a la contribución de cada planta a la formación de las dos subpoblaciones detectadas, se ajustó una nueva lista de individuos para conformar una población no estructurada. En total se seleccionaron 42 individuos (CUADRO 1) con los cuales fue posible realizar los análisis de asociación. Esta selección se efectuó eliminando aquellas plantas que portaban más de 95% del ancestro Criollo, así como los individuos muy diferentes a los de la población no estructurada.

CUADRO 1. Árboles seleccionados para conformar población no estructurada y su procedencia.

ID	LOCALIDAD	ID	LOCALIDAD	ID	LOCALIDAD
SJU04R	INIA-San Juan	BEN17	INIA-San Juan	BEN04	INIA-San Juan
SJU05	INIA-San Juan	BEN19	INIA-San Juan	BEN23	INIA-San Juan
SJU07	INIA-San Juan	BEN21	INIA-San Juan	UVI01	CORPOZULIA
SJU09	INIA-San Juan	BEN22	INIA-San Juan	UVI03	CORPOZULIA
SJU11	INIA-San Juan	BOC01	INIA-San Juan	ABA01X	CORPOZULIA
SJU12	INIA-San Juan	BOC04	INIA-San Juan	CAC01	CORPOZULIA
SJU13	INIA-San Juan	BOC05	INIA-San Juan	LOB13	CORPOZULIA
SJU14	INIA-San Juan	BOC14	INIA-San Juan	ADJ05	CORPOZULIA
SJU15	INIA-San Juan	42	INIA-San Juan	UV103	CORPOZULIA
SJU16	INIA-San Juan	HER1	INIA-San Juan	SP10X	CORPOZULIA
BEN05	INIA-San Juan	81	INIA-San Juan	CBL04	CORPOZULIA
BEN11	INIA-San Juan	04	INIA-San Juan	CBL05	CORPOZULIA
BEN12	INIA-San Juan	02	INIA-San Juan	CBL06	CORPOZULIA
BEN15	INIA-San Juan	BEN01	INIA-San Juan	ABA01	CORPOZULIA

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN

Mediante el análisis de asociación entre los genotipos y la respuesta fenotípica de éstos a la resistencia a la infección por *P. megasperma* (CUADRO 2), se encontró que, de los 7 marcadores microsatélites ligados a la resistencia a especies de *Phytophthora* que se evaluaron, 4 marcadores se encontraron asociados a la resistencia a *P. megasperma* en los individuos seleccionados; de igual modo, el marcador previamente reportado como asociado al color de cotiledones, también se encontró en asociación con la resistencia a la enfermedad en la población de estudio.

De estos marcadores asociados, mTcCIR17 se localiza en el grupo de ligamiento 4 (FIGURA 2), mTcCIR189 en el grupo de ligamiento 8, mTcCIR8 en el grupo de ligamiento 9, mTcCIR229 y mTcCIR223 en el grupo de ligamiento 10. El resto de marcadores analizados no mostraron asociación significativa con la resistencia a “Mancha de Agua”.

Al analizar los gráficos que se efectuaron de las tablas de contingencia entre el genotipo y las frecuencias de fenotipos (ejemplo en la FIGURA 1), se aprecia que el genotipo que muestra en mayor grado la resistencia es el híbrido, mientras que el genotipo homocigoto criollo se relaciona con la menor resistencia, en cada uno de los loci microsatélite analizados.

CUADRO 2. Análisis de asociación (Xi^2) entre marcadores microsatélites y resistencia a *P. megasperma*.

GL	MARCADOR	cM	Xi^2	GdL	P
1	**mTcCIR272**	36,9	7,852	6	0,249
1	mTcCIR286	68,3	7,040	4	0,134
2	mTcCIR268	38,8	8,403	4	0,078
3	mTcCIR120	6,3	2,430	4	0,657
3	mTcCIR82	30,6	1,181	4	0,881
3	mTcCIR167	59,2	3,806	2	0,149
4	**mTcCIR17**	23,4	11,828	4	0,019*
5	mTcCIR109	72	12,255	6	0,057
6	**mTcCIR255**	39,1	1,232	2	0,540
7	mTcCIR190	3,8	1,073	2	0,585
7	**mTcCIR55**	35,5	2,955	4	0,565
8	**mTcCIR189**	46,9	9,520	4	0,049*
9	**mTcCIR8**	52,5	11,273	4	0,024*
9	mTcCIR79	94,1	5,049	2	0,080
10	**mTcCIR229**	11,9	12,123	4	0,016*
10	*mTcCIR223*	72,4	9,323	2	0,009*

GL Grupo de ligamiento,

cM: Ubicación de los microsatélites en unidades centiMorgans con base en el mapa de referencia para el cacao (Pugh *et al*., 2004),

GdL grados de libertad. Umbral de significancia P<0.05,

* estadísticamente significativo, en negritas: marcadores ligados a QTLs o a genes RGA DGA, en itálicas: marcador asociado a color del cotiledón.

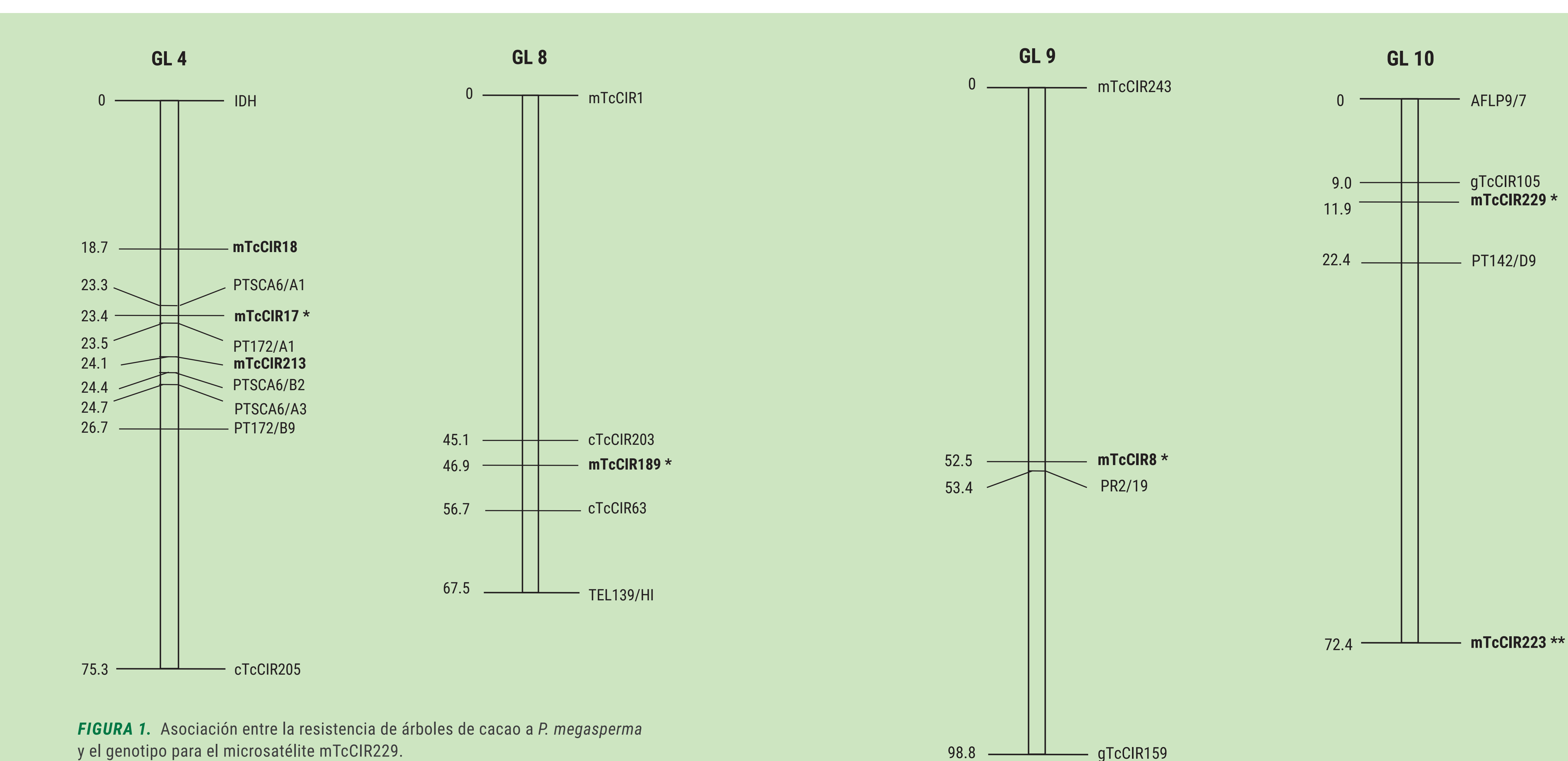


FIGURA 1. Asociación entre la resistencia de árboles de cacao a *P. megasperma* y el genotipo para el microsatélite mTcCIR229.

FIGURA 2. Ubicación de QTL's de resistencia a *Phytophthora palmivora*, análogos de genes RGA y DGA en progenies de cacao de diversa base genética, microsatélites asociados a color de diversas estructuras de la planta y microsatélites asociados a la resistencia a *Phytophthora megasperma* en la población estudiada. **GL**: Grupo de ligamiento y ubicación de los microsatélites en unidades centiMorgans en el mapa de referencia para el cacao (Pugh *et al.,* 2004), en negritas: marcadores ligados a QTLs o a genes RGA y DGA (Clément *et al*., 2003; N'Goran *et al*., 1997 y Lanaud *et al*., 2004), *****: microsatélites asociados en este estudio a la resistencia a *P. megasperma*, ******: microsatélite asociado a la resistencia en este estudio y al color del cotiledón en Marcano *et al*. (2008).

DISCUSIÓN

ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN

El análisis de la estructura de la población, realizado mediante el programa Structure, permitió evidenciar la existencia de dos (2) subpoblaciones. En el análisis se encontró el solapamiento de un grupo de individuos (Criollos con alta homocigosis), evidencia clara de que no existe una diferenciación genética entre éstos, mientras que otro grupo de individuos presentó dispersión, siendo ésta extrema para tres árboles (LOB38, RA01 y RA05) que se consideraron fuera de tipo.

La estratificación de la población, evidenciada por la existencia de dos subpoblaciones, de acuerdo al análisis, resulta ser no funcional para realizar estudios de mapeo por asociación (Flint-García *et al*., 2003); por esta razón, sería difícil efectuar un estudio de asociación con todos los cultivares seleccionados; ello justificó el ajuste de la población, a fin de eliminar aquellos individuos que contribuían al establecimiento de la estructura poblacional, según los resultados obtenidos mediante el programa *Structure*. La eliminación de estos individuos generó una población no estructurada, más adecuada para el estudio de mapeo por asociación. Este procedimiento ha mostrado ser apropiado en previos estudios de asociación (Marcano *et al*., 2007).

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE MARCADORES MICROSATÉLITES Y LA RESISTENCIA A P. MEGASPERMA

De acuerdo con los resultados obtenidos del análisis de asociación entre marcadores moleculares y la resistencia a *P. megasperma*, se encontraron 5 marcadores asociados a ésta en la población estudiada. El marcador mTcCIR17 en el grupo de ligamiento 4, mTcCIR189 en el grupo de ligamiento 8, mTcCIR8 en el grupo 9 y en el 10 los microsatélites mTcCIR229 y mTcCIR223 *(FIGURA 2)*.

El reporte del marcador mTcCIR17 ubicado en el cromosoma 4, es coincidente con estudios previos, en los cuales se encontraron QTLs ligados a la resistencia a especies de *Phytophthora* en esta zona del genoma, en progenies de diversa base genética (Clément *et al*., 2003). Lanaud *et al.* (2004) en sus trabajos encuentran esta región ligada a genes candidatos RGA (Resistance Gene Analogs) de las clases N y Pto *(FIGURA 2)*.

Los genes que confieren resistencia en las plantas se clasifican en dos grupos, uno conformado por genes involucrados en el reconocimiento del patógeno llamados genes RGA, (*Resistance Gene Analogs*) y el otro grupo de genes implicados en los mecanismos de defensa de la planta, frente al reconocimiento del patógeno (genes DGA o *Defense Gene Analogs*) (Agrios 2005). Los genes N aislados en tabaco, están relacionados con proteínas receptoras citoplasmáticas que contienen dominios ricos en leucinas, mientras que los genes Pto de tomate, son del grupo Kinasa y contienen dominios serina-treonina-kinasa (STK) involucrados en la transducción intracelular, o están asociados a estructuras receptoras de kinasa.

Los estudios de Lanaud *et al.* (2004), llevados a cabo mediante la amplificación por PCR de fragmentos de genes análogos de RGA y DGA, en la población de referencia del cacao (UPA402 x UF676) (Pugh *et al*., 2004), permitieron ubicar en el grupo de ligamiento 4 a los genes PTSCA6/A1 (a 23,3 centiMorgans), PT172/A1 (a 23,5 cM), PTSCA6/B2 (a 24,4 cM), PTSCA6/A3 (a 24,7 cM) y PT172/B9 (a 26,7 cM) *(FIGURA 2)*.

Tomando en cuenta que el marcador microsatélite (mTcCIR17) está distanciado a 23,4 cM con respecto al mismo mapa de ligamiento para el cacao *(FIGURA 2)*, se asume que existiría una estrecha asociación entre este marcador microsatélite y los genes encontrados por Lanaud *et al.* (2004).

Clément *et al.* (2003) encontraron QTL's de la resistencia a *Phytophthora* cerca del marcador mTcCIR18 (18,7 cM–24,1cM) en dos poblaciones de cacao. Cabe destacar que, en las mismas regiones del cromosoma 4 donde se encuentra la resistencia, Clément *et al.* (2003), reportan ligamiento entre QTLs implicados en vigor y QTLs ligados al peso de las semillas en dos poblaciones de mapeo IMC78 y DR1. Según estos resultados, los autores sugieren una relación entre la resistencia de las plantas de cacao a *Phytophthora palmivora* y el peso de las semillas.

Realizando estudios de asociación en poblaciones de cacao que incluían desde criollos hasta forasteros, Marcano *et al.* (2007) encontraron en esta región al marcador mTcCIR213 (24,1 cM) del grupo de ligamiento 4, también asociado al peso de la semilla y del fruto y, en una población venezolana cultivada de cacao, asociados además a la pigmentación de distintas estructuras de la planta como fruto, cotiledones y partes florales (Marcano *et al*., 2008).

Con respecto al marcador mTcCIR189, encontrado en el grupo de ligamiento 8 y ubicado a 46,9 cM según el mapa de ligamiento de referencia (Pugh *et al*., 2004), también se encuentra coincidencia en trabajo previos, en los cuales los marcadores cTcCIR203 (56,7 cM) y cTcCIR63 (45,1 cM) se encuentran ligados a la resistencia a especies de *Phytophthora* (N'Goran *et al*., 1997). Estos autores también reportan QTLs relacionados con el peso del grano (cTcCIR98 a 46,5 cM) en el mismo grupo de ligamiento bastante cercano al asociado a la resistencia mTcCIR8, lo que apoya lo propuesto por Clément *et al.* (2003) sobre la relación entre la resistencia y el peso de las semillas.

En los grupos de ligamiento 9 y 10 también se encuentra coincidencia entre los marcadores microsatélites asociados a la resistencia con QTLs reportados en otros trabajos. Lanaud *et al.* (2004) encuentran al DGA PR2/19 en el grupo de ligamiento 9 a una distancia de 53,4 cM de acuerdo al mapa de ligamiento de referencia para el cacao. Este gen se encuentra muy cerca del marcador encontrado en este trabajo mTcCIR8 (52,5 cM), lo que evidenciaría una asociación entre el marcador y el gen PR2/19 implicado en la respuesta de defensa.

Una vez más se afirma la asociación entre la resistencia y características morfológicas de las semillas, cuando N'Goran *et al.* (1997) encuentran para el mismo grupo de ligamiento, el marcador gTcCIR102 (59 cM) ligado a un QTL de longitud de las semillas, al igual que Marcano *et al* (2008) que reportan en esta región, varios marcadores: mTcCIR58 (60,1 cM),

mTcCIR142 (47,4 cM) y mTcCIR124 (40,1 cM) asociados a dimensiones de la semilla.

En el grupo de ligamiento 10 se encuentra asociación entre los marcadores mTcCIR229 (11,9 cM) y mTcCIR223 (72,4 cM). Reportes hechos por N'Goran *et al* (1997) indican que el marcador gTcCIR105 está ligado a la resistencia a *Phytohthora* spp. en zonas muy cercanas al mTcCIR229 y Lanaud *et al*. (2004) reportan en esta zona al gen candidato PT142/D9.

Con respecto al marcador mTcCIR223, asociado a la resistencia a *P. megasperma*, Marcano *et al*. (2008) lo encuentra asociado con diversos caracteres del fruto y de las semillas, además del color de los cotiledones y de estaminodios.

Los caracteres de la semilla, como dimensiones y color, son parámetros que diferencian individuos Criollos de Forasteros. Así como la resistencia a *Phytophthora* parece estar favorecida en los híbridos, la pigmentación y el tamaño pequeño de las almendras, son caracteres típicos de forasteros e híbridos; por el contrario, las semillas grandes, redondeadas y no pigmentadas, son características de los Criollos, de allí la relación estadística que puede explicar la ubicación de estos caracteres (resistencia, dimensiones de la semilla y pigmentación), en algunas regiones genómicas coincidentes, en las cuales estos caracteres podrían por ende, estar ligados físicamente o estar asociados por desequilibrio del ligamiento.

Por otro lado, las antocianinas, que producen la pigmentación en diversas estructuras del cacao, pudieran relacionarse con la resistencia bioquímica constitutiva o preformada que actúa desde el inicio de la infección, lo que explicaría la resistencia del cacao a especies de *Phytophthora* localizada en las mismas regiones de la pigmentación de estructuras del GL 4 y del GL 10 (Marcano *et al*., 2008).

CONCLUSIONES

El análisis de estructura permitió verificar que 2 subpoblaciones conformaban la población original, lo cual justificó la selección de individuos para obtener una población no estructurada adecuada para realizar estudios de asociación.

Mediante el análisis de asociación se lograron confirmar, en la población de árboles seleccionados estudiada, 4 de las 7 regiones previamente reportadas, ligadas a la resistencia a diferentes especies de *Phytophthora* y a genes análogos de resistencia y defensa.

Se logró comprobar la estabilidad de algunas regiones implicadas en la resistencia a especies de *Phytophthora*, siendo éstas coincidentes en otros estudios efectuados con poblaciones de diversa base genética, mediantes análisis de QTLs.

Para los loci microsatélites que se encontraron asociados a la resistencia a *P. megasperma*, el genotipo que muestra en mayor grado la resistencia es el híbrido, mientras que el genotipo homocigoto criollo se relaciona con la menor resistencia.

Se encontraron asociados a la resistencia a *P. megasperma*, 2 regiones del genoma previamente reportadas como asociadas a la pigmentación de distintos órganos de la planta de cacao.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el CDCH-TA de la Universidad de Los Andes, mediante el Proyecto C-1571-08-01-B. Agradecemos a la Dra. Francisca Ely por su colaboración en la traducción del resumen al idioma inglés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDINSOFT. 2015. *XLSTAT 2015: Data Analysis and Statistical Solution for Microsoft Excel*. Paris, France.

AGRIOS, G. 2005. *Plant Pathology*. 5ta Edición. ELSEVIER Academic Press.

BASSAM, B., CAETANO-ANOLLÉS, G. & P. GRESSHOFF. 1991. A fast and sensitive silver-staining for DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 196: 80-83.

BLAHA, G., ESKES, A., KÉBE, B. I. & G.M. TAHI. 2000. Early screening of resistance to *Phytophthora* spp. by means of leaf disc inoculation. *In*: Working procedures for cocoa germoplasm evaluation and selection. Proceedings of the CFC/ICCO/IPGRI Project workshop (A. Eskes, J.M.M. Engels and R.A. Lass, eds.). Montpellier, France. Rome: IPGRI, pp. 103-108.

CLÉMENT, D., RISTERUCCI, A.M., MOTAMAYOR, J.C., N´GORAN, J.A.K. & C. LANAUD. 2003. Mapping QTL for yield components, vigor, and resistance to *Phytophthora palmivora* in *Theobroma cacao* L. Genome. 46: 204-212

CORNÉ, M.J., RISSEEUW, E.P. & E.P. DAVIDSE. 1991. An in plant induced gene of *Phytophthora infestans* codes for ubiquin. *Plant Molecular Biology*, 17: 799-811.

CROUZILLAT, D., PHILLIPS, W., FRITZ, P. & V. PÉTIARD. 2000. Quantitative trait loci analysis in *Theobroma cacao* using molecular markers. Inheritance of polygenic resistance to *Phytophthora palmivora* in two related cacao populations. Euphytica. 114: 25-36.

DIERS, B.W., MANSUR, L., IMSANDE, J. & R.C. SHOEMAKER. 1992. Mapping *Phytophthora* resistance loci in soybean with Restriction Fragment Length Polymorphism markers. Crop Science 32(2): 377-383

ENRIQUEZ, G.A. & L.G. SALAZAR. 1987. Cocoa varietal resistance to *Phytophthora palmivora* and its inheritance at Turrialba, Costa Rica. Turrialba, Costa Rica, 13 p.

FLAMENT, M., KEBE, I., CLEMENT, D., PIERETTI, I., RISTERUCCI, A.M., N'GORAN, J.A.K., CILAS, C., DESPRÉAUX, D. & C. LANAUD. 2001. Genetic mapping of resistance factors to *Phytophthora palmivora* in cocoa. Genome. 44: 79-85

FLINT-GARCIA, S., THORNSBERRY, J. & E. BUCKLER IV. 2003. Structure of Linkage Disequilibrium in Plants. Annu. Rev. Plant Biol. 54: 357-374.

ICCO. International Cocoa Organization. Report 2011-2012. London, United Kingdom.

INGENIC 2000. Proc. of the International Workshop on New Technologies and Cocoa Breeding. Malaysia, 16-17 October.

JANNINK, J. & B. WALSH. 2002. Association Mapping in Plant Populations. In Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding. (ed. M.S. Kang). CAB International. pp 59-68.

LANAUD, C., RISTERUCCI, A.M., PIERETTI, I., N´GORAN, J.A.K. & D. FARGEAS. 2004. Characterization and genetic mapping of resistance and defence gene analogs in cocoa (*Theobroma cacao* L.). Molecular Breeding. 13: 211-227.

LIU, B. 1998. Statistical Genomics: Linkage, Mapping and QTL Analysis. CRC Press, USA. 611 p.

MARCANO, M. 2007. Cartografía genética de factores del rendimiento y caracteres morfológicos en una población cultivada de cacao criollo “moderno” (*Theobroma cacao* L.), mediante un análisis de asociación. Universidad de Los Andes. Facultad de Medicina, Postgrado en Ciencias Médicas Fundamentales. Mérida, Venezuela. 127 p. (Tesis Doctoral)

MARCANO, M., PUGH, T., CROS, E., MORALES, S., PORTILLO, E., COURTOIS, B., GLASZMANN, J.C., ENGELS, J.M.M., PHILLIPS, W., ASTORGA, C., RISTERUCCI, A.M., FOUET, O., GONZÁLEZ, V., ROSENBERG, K., VALLAT, I., DAGERT, M. & C. LANAUD, 2007. Adding value to cocoa *Theobroma cacao* L. germplasm information with domestication history and admixture mapping. Theor. Appl. Gen. 1008:1151-1161.

MARCANO, M., MORALES, S., HOYER, M.T., COURTOIS, B., FOUET, O., PUGH, T., CROS, E., DAGERT, M, GONZÁLEZ, V. & C. LANAUD. 2008. A genomewide admixture mapping study for yield factors and morphological traits in a cultivated cocoa (*Theobroma cacao* L.) population. Tree Genetics and Genomes 5(2):329-337.

MORA, V. MARCANO, M., RUMBOS, R., CHACÓN, I., GÓMEZ. A., ROSALES, M, & A.MORA. 2016. Asociación entre microsatélites y la resistencia a *Phytopthora megasperma*, en árboles de *Theobroma cacao* L. I. Análisis del fenotipo y del genotipo. Pittieria 40: 144-163.

MAXIMOVA, S., YOUNG, A., PISHAK, A. & M. GUILTINAN. 2006. Evaluación de plantas de cacao propagadas a través del cultivo de tejidos y métodos tradicionales. 15ª Conferencia Internacional sobre Investigaciones del Cacao. San Jose, Costa Rica, 9-14 Octubre.

N´GORAN, J.A.K., RISTERUCCI, A.M., CLEMENT, D., SOUNIGO, O., LORIEUX, M. & C. LANAUD. 1997. Identification of Quantitative Trait Loci (QTL) in *Theobroma cacao* L. Agronomie Africaine 9: 55–63.

PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M. & P. DONNELLY. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.

PUGH, T., FOUET, O., RISTERUCCI, A.M., BROTTIER, P., ABOULADZE, M., DELETREZ, C., COURTOIS, B., CLÉMENT, D., LARMANDE, P., N´GORAN, J.A.K. & C. LANAUD. 2004. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite marker. Theor. Appl. Gen. 108: 1151-1161.

RISTERUCCI, A.M., PAULIN, D., DUCAMP, M., N´GORAN, J.A.K. & C. LANAUD. 2003. Identification of QTLs related to cocoa resistance to three species of *Phytophthora*. Theor Appl Genet 108: 168-174

SCHNELL R.J., OLANO, C.T., BROWN, J.S., MEEROW, A.W. & C. CERVANTES-MARTÍNEZ. 2005. Retrospective determination of the parental population of superior cacao (*Theobroma cacao* L) seedlings and association of microsatellite alleles with productivity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130(2): 181-190.

SODRÉ, G.A., DE SOUSA, J.O., CORÁ, J.E. & A. BARRETO. 2006. Sustratos para enraizamiento y crecimiento de miniestacas de cacao. 15ª Conferencia Internacional sobre Investigaciones del Cacao. San José, Costa Rica, 9-14 Octubre.

SPENCE, JA. & B.G. BARTLEY. 1966. Testing of breeding material of *Theobroma cacao* for resistance to black pod disease (*Phytophthora palmivora*). Second session of FAO Technical Working Party on Cocoa Production and Protection. FAO.

TAN, GY. & W.K. TAN. 1990. Additive inheritance of resistance to pod rot caused by *Phytophthora palmivora* in cocoa. Theor. Appl. Genet. 80: 258-264

TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H. & M.W. BONIERBALE. 1989. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. Biotechnology 7: 257-263.

WEIR B. 1996. Genetic Data Analysis II. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachussets.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria 41

ENERO-DICIEMBRE 2017

págs. 24—39

CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA DE PORCIONES JUVENILES DE TALLOS DE CACTACEAE PRESENTES EN LOS ESTADOS LARA Y FALCÓN (VENEZUELA)

ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF YOUNG PORTIONS OF STEM OF CACTACEAE PRESENT IN THE LARA AND FALCON STATE

por

DAMELIS JÁUREGUI[1], MARINA GARCÍA[1] y ERNESTO MEDINA[2]

1 Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Aragua, Venezuela.
2 Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Miranda, Venezuela.
jaureguid@gmail.com

RECIBIDO: noviembre 04 de 2016 / **ACEPTADO:** mayo 30 de 2017

RESUMEN

Se estudió la anatomía de porciones juveniles de tallos, en trece especies de Cactaceae que crecen en los estados Lara y Falcón, a fin de obtener información biológica que pueda contribuir a delimitarlas taxonómicamente. Las especies estudiadas fueron: *Acanthocereus tetragonus*, *Cilindropuntia caribaea*, *Epiphyllum hookerii*, *Hylocereus lemairei*, *Melocactus curvispinus* ssp. *curvispinus*, *Opuntia caracasana*, *O.* cf. *bisetosa*, *Pilosocereus moritzianus*, *Praecereus euchlorus*, *Rhipsalis baccifera*, *Selenicereus inermis*, *Subpilosocereus russellianus* y *Stenocereus griseus*. Se recolectaron trozos de tallos jóvenes, los cuales fueron fijados en FAA y procesados hasta la obtención de láminas permanentes; las mismas fueron estudiadas bajo microscopio óptico de campo claro. También se obtuvieron porciones de epidermis, mediante la técnica de maceración. Los taxones tienen características similares entre ellos y comunes con otras cactáceas, como epidermis uniestratificada, tipo de estoma (paracítico o duploparacítico), presencia de colénquima, diferenciación del clorénquima en empalizada y esponjoso, a excepción de pocas especies, presencia de células o cavidades mucilaginosas, así como en los rasgos del tejido vascular. Principalmente en la epidermis se evidenciaron varias características que distinguen las especies. Los taxones varían en sus atributos cuantitativos.

PALABRAS CLAVE: Anatomía, caule, colénquima, clorénquima, taxonomía.

ABSTRACT

The anatomy of young portions of stems was studied in thirteen species of Cactaceae grown in the Lara and Falcon States, in order to obtain biological information that could contribute to taxonomic delimitation. The species studied were: *Acanthocereus tetragonus*, *Cilindropuntia caribaea*, *Epiphyllum hookerii*, *Hylocereus lemairei*, *Melocactus curvispinus* ssp.curvispinus, *Opuntia caracasana*, *O.* cf. bisetosa, *Pilosocereus moritzianus*, *Praecereus euchlorus*, *Rhipsalis baccifera*,*Selenicereus inermis*, *Subpilosocereus russellianus* and *Stenocereus griseus*. Pieces of these stems were collected; they were fixed in FAA and processed until obtaining permanent slides, which were studied under a light field microscope. Epidermis portions were also obtained by the maceration technique. The taxa share similar characteristics between them and in common with other Cactaceae, such as unstratified epidermis, type of stoma (paracytic or duploparacytic), presence of collenchyma, differentiation of chlorenchyma in palisade and spongy, except in few species, presence of cells or mucilaginous cavities, as well as in vascular tissue features. In the epidermis, mainly, were evidenced several characteristics that distinguish the species. Taxons vary in their quantitative attributes.

KEY WORDS: Anatomy, caule, collenchyma, chlorenchyma, taxonomy.

INTRODUCCIÓN

La anatomía caulinar, ha sido poco abordada en las Cactaceae, la mayoría de los estudios existentes hacen énfasis en la superficie epidérmica o en el xilema secundario, como lo indican Terrazas *et al.* (2005). Entre los trabajos vinculados a la caracterización del caule destacan el realizado por Terrazas & Arias (2002) en las Cactoideae; el producido por Terrazas *et al.* (2005) en especies de *Stenocereus* Riccob.; el conducido por Soffiatti & Angyalossy (2007) en tres especies de Cereeae, endémicas del Brasil, el efectuado por Calvente *et al.* (2008) en seis especies de *Rhipsalis* Gaertn., así como el ejecutado por García *et al.* (2009) en tres especies de *Hylocereus* (Berger) Britton & Rose. En Venezuela, a pesar de contar con 40 especies pertenecientes a las Cactaceae (Hokche *et al.* 2008), son muy pocos los estudios anatómicos en este taxón, pudiendo citar los publicados por Mérida & Arias (1979) sobre el desarrollo de espinas en plántulas de *Cereus griseus* Haw. y los de Fernández (1995, 1999) referentes a características de la epidermis en *Opuntia lilae* Trujillo *et* Ponce y a la estomatogénesis en cinco especies de *Opuntia* Mill., respectivamente; no obstante, a nivel caulinar, solo hay trabajos sobre leño (Lindorf, 1994; León, 2001-2002). Este artículo sería el primer aporte al conocimiento de la anatomía caulinar de especies de Cactaceae presentes en Venezuela.

Cactaceae es una familia con biotipos variables, hierbas, arbustos, árboles, trepadoras y epífitas, las cuales exhiben diversas morfologías en sus tallos, lo cual hace de éste, un grupo interesante para el estudio de su anatomía (Barthlott & Hunt, 1993; Altesor & Ezcurra, 2003). Bravo-Hollis (1978) indicó que la estructura histológica del tallo de las cactáceas es semejante a la de otras dicotiledóneas, pero con características propias de plantas suculentas y estructuras propias de la familia que deben ser investigadas.

En las zonas xéricas de Venezuela crecen numerosas especies de Cactaceae. Para este estudio se seleccionaron trece taxa (tres de ellas ubicadas en las Opuntioideae y el resto en las Cactoideae) que habitan en los estados Lara y Falcón con el fin de caracterizar la estructura anatómica de sus tallos jóvenes, para aportar información biológica que pueda contribuir a su delimitación taxonómica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron trozos de tallos juveniles de al menos tres individuos de cada una de las especies *(CUADRO 1)*, las mismas se encontraban creciendo en bosques secos o deciduos con ambiente seco o sub-húmedo, solo *E. hookerii* y *R. baccifera* se localizaron en bosque semi-deciduo estacional con ambiente húmedo. Dichos trozos se fijaron en FAA (formaldehido, ácido acético, etanol 70 %) y se procesaron hasta la obtención de láminas permanentes, siguiendo los protocolos propuestos por Johansen (1940). Para ello las muestras (porciones no areolares) se deshidrataron en una serie ascendente de alcohol butílico terciario y se infiltraron e incluyeron en paraplast (58 °C punto de fusión). El seccionamiento se hizo con micrótomo de rotación (15 µm de espesor); las secciones obtenidas se tiñeron con safranina-fastgreen y se montaron en bálsamo de Canadá. Además, se prepararon macerados

CUADRO 1. Especies estudiadas, su ubicación taxonómica y una vista macroscópica del tallo en sección transversal y localidad de recolección.

SUBFAMILIA	TRIBU	TAXÓN	TALLO CONTORNO (SECCIÓN TRANSVERSAL)	LOCALIDAD DE RECOLECCIÓN
	Cereeae	*Melocactus curvispinus* Pfeiff subsp. *curvispinus*		Carretera Coro-La Tabla (≈ N 11º 21' 36" to16'59", W 69º 39' 57" to 43'43"; 70-100 m)
		Pilosocereus moritzianus (Otto) Byles & G.D. Rowley Salm-Dick		Marcillal (≈11º21'36", 69º39'57", 70 m)
		Praecereus euchlorus (F.A.C. Weber) N.P. Taylor		Marcillal (≈11º21'36", 69º39'57", 70 m)
		Subpilocereus russelianus (Otto) Backeb.		Marcillal (≈11º21'36", 69º39'57", 70 m)
	Hylocereeae	*Epiphyllum hookeri* Haw.		Carretera Barquisimeto-Moron (≈ 10º26'26", 68º24'09", 70 m)
		Hylocereus lemairei (Hook.) Britton & Rose		La Tabla-Curimagua (≈11º 12'37", 69º45'49", 260 m)
		Selenicereus inermis (Otto) Britton & Rose		La Tabla-Curimagua (≈11º 12'37", 69º45'49", 260 m)
	Pachycereeae	*Acanthocereus tetragonus* (L.) Hummelinck		Marcillal (≈11º21'36", 69º39'57", 70 m)
		Stenocereus griseus (Haw.) Buxb.		Carretera Coro-La Tabla (≈ N 11º 21' 36" to16'59", W 69º 39' 57" to 43'43"; 70-100 m)
	Rhipsalideae	*Rhipsalis baccifera* (J.S. Muell.) Stearn		Carretera Barquisimeto-Moron (≈ 10º26'26", 68º24'09", 70 m)
Opuntioideae	Cylindropuntieae	*Cylindropuntia caribaea* (Britton & Rose) Knuth		Carretera Coro-La Tabla (≈ N 11º 21' 36" to16'59", W 69º 39' 57" to 43'43"; 70-100 m)
	Opuntieae	*Opuntia cf. bisetosa*		Carretera Curimagua-Churuguara (≈10º43'20", 69º18'06"; 450 m)
		Opuntia caracasana Salm-Dyck		Carretera Coro-La Tabla (≈ N 11º 21' 36" to16'59", W 69º 39' 57" to 43'43"; 70-100 m)

parciales, en cuyo caso se separaron trozos de tallo de 4-5 mm^2, los cuales se rasparon previamente con una hojilla a fin eliminar parte del tejido fundamental próximo a la epidermis y luego se sometieron a la acción de hipoclorito de sodio comercial (5,25 %), a temperatura ambiente, durante aproximadamente una hora. Posteriormente, se lavaron con agua destilada y se terminó de eliminar el tejido parenquimático, mecánicamente, bajo microscopio estereoscópico. Las epidermis obtenidas fueron teñidas con safranina-azul astra (Krauss & Arduin, 1997) y se montaron en agua-glicerina (V:V).

Todas las láminas obtenidas fueron estudiadas bajo microscopio óptico de campo claro. Además, se efectuaron las pruebas histoquímicas propuestas por Johansen (1940) para detectar almidón y lignina en secciones a mano alzada. Se tomaron fotomicrografías con una cámara digital Evolution LC acoplada a un microscopio óptico Nikon E200.

Se determinaron algunas variables cuantitativas con la ayuda de un ocular micrométrico, incorporado a un microscopio calibrado, registrando entre 15 y 20 observaciones por variable. Entre las variables registradas están: espesor de la pared celular externa más cutícula y de la epidermis, número de capas de la hipodermis y del parénquima en empalizada (si presentes). Asimismo, se contaron estomas con el fin de calcular la densidad estomática. Se calcularon los valores promedio de dichas variables.

RESULTADOS

Los tallos están revestidos por una cutícula lisa en todos los taxa; el grosor de ésta más la pared celular externa de las células epidérmicas varía entre menos de 2,5 µm (tres de las especies) y 12,5 µm, valor mayor, registrado en *P. moritzianus* **(CUADRO 2)**. En sección transversal, se observa la epidermis uniestratificada, glabra y constituida por células cuadrangulares a rectangulares en la mayoría de las especies **(FIGURAS 1A-B, 1D)**, excepto en *S. russelianus* **(FIGURA 1E)** que es papilosa y en *C. caribaea* y *R. baccifera* donde predominan las formas cónicas y triangulares, las cuales se organizan de tal forma que en esta última especie se asemejan a papilas y definen una superficie crenulada, ya que tiene muescas o festones pequeños **(FIGURA 1C)**, producto de dicha organización. En vista paradérmica, las paredes anticlinales son rectas en la mayoría de las especies **(FIGURAS 1K-L)**, excepto en *A. tetragonus* **(FIGURA 1G)**, *E. hookerii* **(FIGURA 1H)** y *P. euchlorus* donde son rectas a ligeramente onduladas; en *O. caracasana* **(FIGURA 1J)** con paredes onduladas y en *M. curvispinus* ssp. *curvispinus* **(FIGURA 1I)** en la que son muy onduladas; hay poca variación en el grosor de dichas paredes. Los estomas son paracíticos **(FIGURAS 1G, 1K Y 1L)** y duploparacíticos **(FIGURA 1I)**, en el primer tipo llama la atención que las células próximas a las acompañantes se organizan alrededor del estoma, en forma de anillo; no obstante, en seis de ellas no fue posible distinguirlos, debido a que fue imposible separar la epidermis de la hipodermis, porque este último tejido muestra paredes muy gruesas. La densidad estomática promedio varía entre 14-31 estomas/mm^2 **(CUADRO 2)**.

CUADRO 2. Rasgos anatómicos de la epidermis caulinar de las especies de Cactaceae estudiadas.

TAXONES	GROSOR DE PARED CELULAR EXTERNA MÁS CUTÍCULA (µm)	PARED EXTERNA EN SECCIÓN TRANSVERSAL	ONDULACIÓN Y GROSOR DE LAS PAREDES ANTICLINALES DE LAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS TÍPICAS	DENSIDAD ESTOMÁTICA (ESTOMAS/mm^2)
M. curvispinus subsp. *curvispinus*	5	Convexa	Muy onduladas y delgadas	30,9
P. moritzianus	12,5	Recta	Rectas y delgadas	20,9
P. euchlorus	<2,5	Recta y ligeramente convexa	Rectas y delgadas	21,5
S. russelianus	10	Convexa	Rectas y gruesas	29,7
E. hookerii	<2,5	Convexa	Rectas a levemente onduladas y delgadas a ligeramente gruesas	17,3
H. lemairei	7,5	Convexa	Levemente onduladas y delgadas	21,5
S. inermis	3	Recta	Rectas y gruesas	17,9
A. tetragonus	<2,5	Convexa	Rectas a levemente onduladas y gruesas	29,4
S. griseus	5	Recta	Rectas y gruesas	22,7
R. baccifera	5	Apariencia papilosa	Rectas y delgadas, depresiones longitudinales evidentes	14,2
C. caribaea	7,5	Convexa a apiculada	Rectas y delgadas	24,6
O. cf. *bisetosa*	3,5	Recta y ligeramente convexa	Rectas y gruesas	15,45
O. caracasana	2	Recta y convexa	Onduladas y delgadas	18,8

En sección transversal, los estomas se observan al nivel de las células epidérmicas **(FIGURA 1C)**, excepto en *H. leimarei* y *O. bisetosa* donde se encuentran hundidos, en mayor cuantía en la primera especie nombrada **(FIGURA 1B)**.

Subepidérmicamente, se distingue la hipodermis constituida por 2 hasta 13 capas de células orientadas vertical u horizontalmente **(FIGURAS 1A-F, 2A-C)**. Hay variación en el grado de engrosamiento de las paredes, siendo bastante delgadas en *E. hookerii* y *R. baccifera*, por lo que se le reconoce principalmente por la posición, tamaño y contenido celular escaso **(FIGURAS 2B-C)**. La hipodermis está interrumpida por las cámaras subestomáticas, formándose canales de longitud apreciable **(FIGURA 1B)**, particularmente en *S. griseus* **(FIGURA 1F)**.

La región cortical está constituida por parénquima clorofiliano y de reserva de agua y almidón **(FIGURA 2A)**. El primero está formado por células cuadrangulares y rectangulares con su eje mayor perpendicular a la superficie,

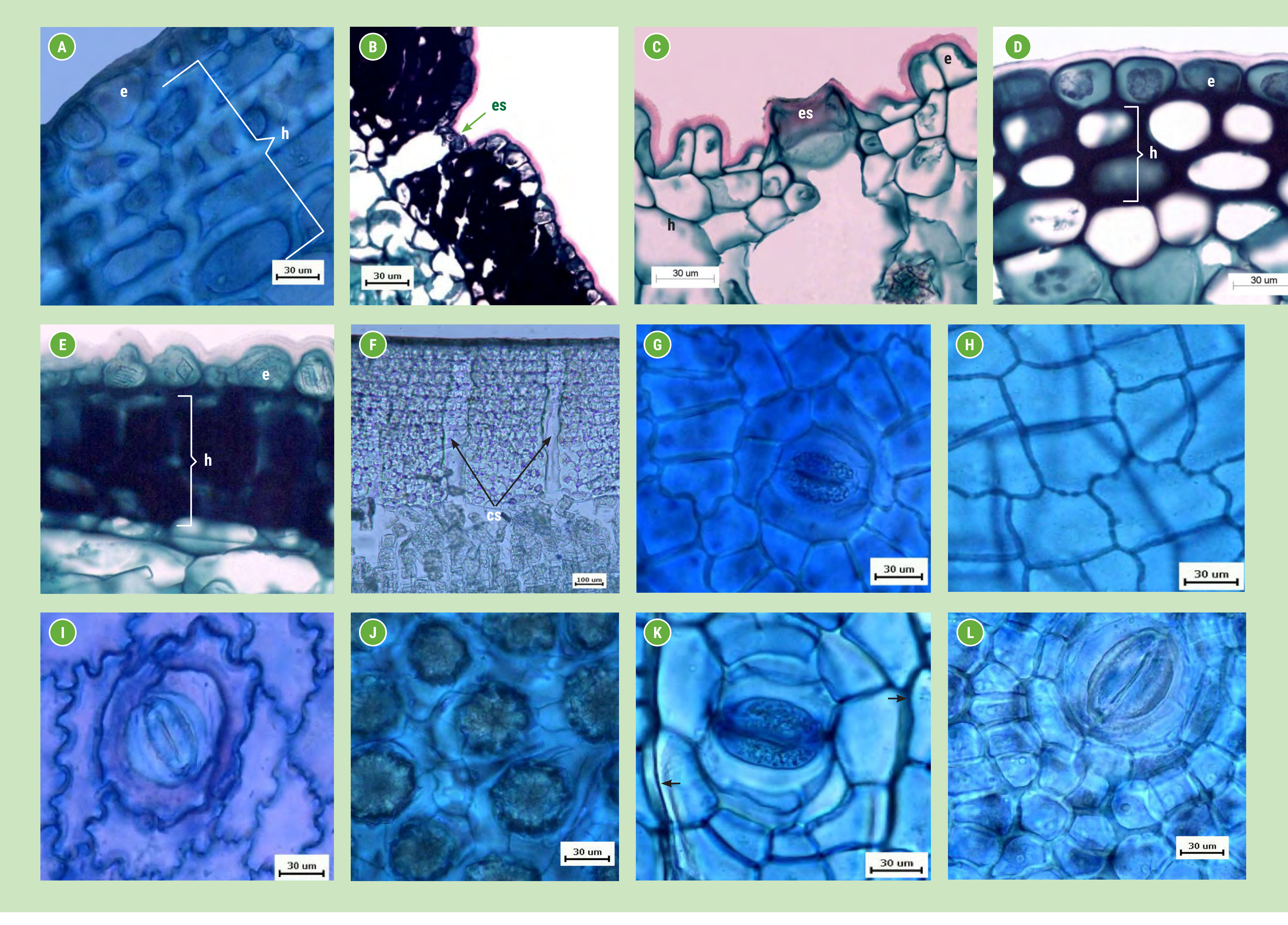


FIGURA 1. **[C]** Rasgos epidérmicos e hipodérmicos en especies de Cactaceae. **[A-F]** Epidermis e hipodermis en sección transversal. **[G-L]** Epidermis en vista frontal. **[A]** *A. tetragonus*, **[B]** *H. leimarei*, nótese estoma hundido, **[C]** *R. baccifera*, **[D]** *S. inermis*, **[E]** *S. russelianus*, **[F]** *S. griseus*, **[G]** *A. tetragonus*, **[H]** *E. hookerii*, **[I]** *M. curvispinus*, **[J]** *O. caracasana*, **[K]** *R. baccifera*, nótense canales longitudinales, indicados con flechas y **[L]** *S. griseus*. **cs**: cámara subestomática, **e**: epidermis, **es**: estoma, **h**: hipodermis.

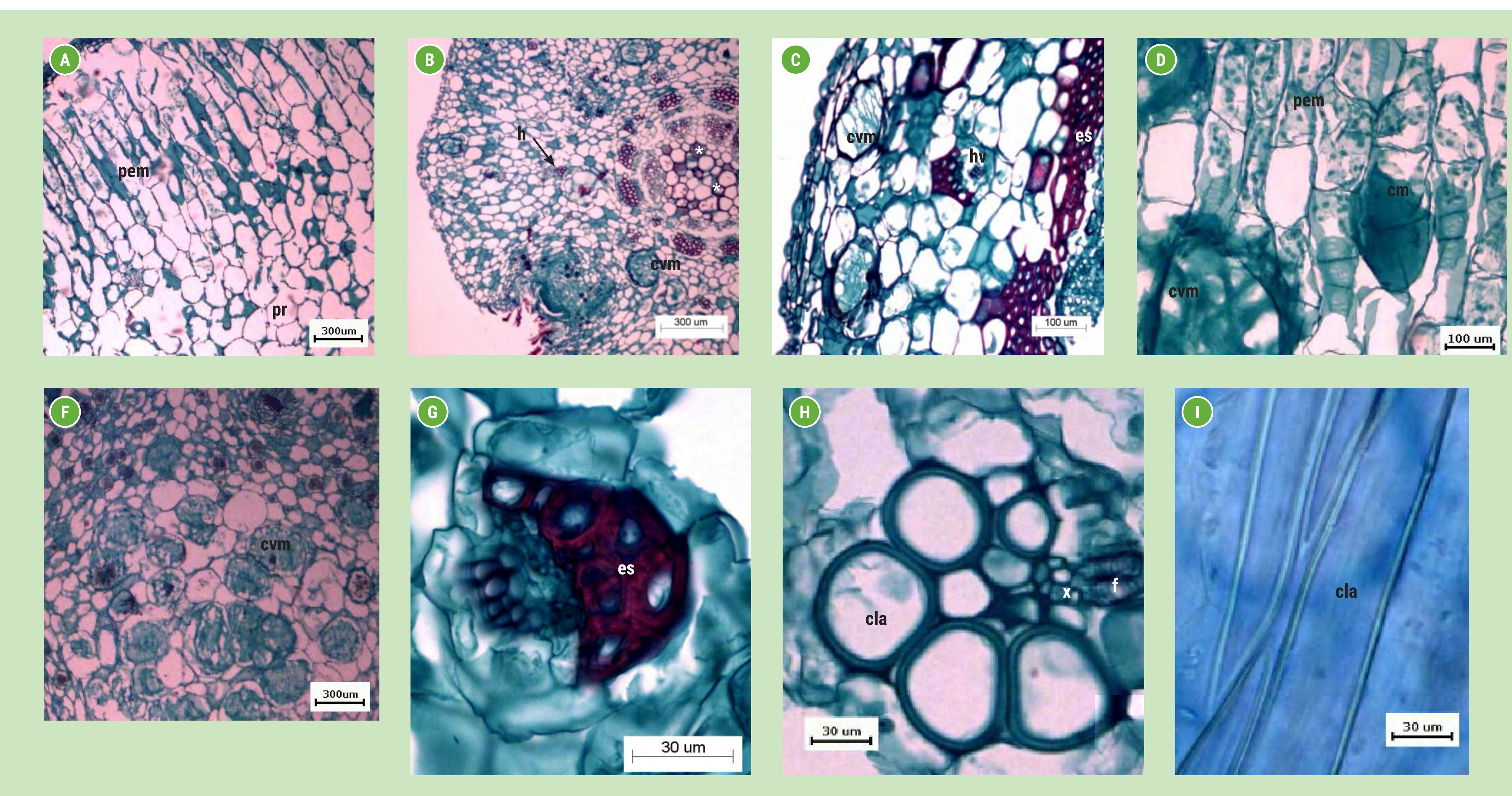


FIGURA 2. **[A y B]** Vistas generales de la región externa. **[A]** *P. euchlorus*, nótese forma y disposición de las células del parénquima. **[B]** *E. hookerii*, nótese hipodermis, parénquima homogéneo y banda de esclerénquima. **[C]** Vista general de la región externa y estela de *R. baccifera*, nótese haz vascular fuera de la estela indicado con flecha y células esclerificadas en la región medular, indicadas con astérisco. **[D]** Parénquima en empalizada en *S. russellianus*, nótense células y cavidades mucilaginosas. **[E]** Haz vascular en *P. euchlorus*. **[F]** Médula en *C. caribaea*, nótense cavidades mucilaginosas. **[G]** Haz vascular con casquete esclerenquimático en *M. curvispinus*. **[H-I]** *A. tetragonus*, **[H]** Haz vascular con células de lumen amplio y paredes gruesas (sección transversal), **[I]** Vista longitudinal de dichas células. **cla**: célula de lumen amplio, **cm**: célula mucilaginosa, **cvm**: cavidad mucilaginosa, **es**: esclerénquima, **f**: floema, **h**: hipodermis, **hv**: haz vascular, **pem**: parénquima en empalizada, **pr**: parénquima reservante, **x**: xilema.

a modo de empalizada (*FIGURAS 2A, 2D*), excepto en *E. hookerii* (*FIGURA 2C*), *M. curvispinus* ssp. *curvispinus* y *R. baccifera* (*FIGURA 2B*) donde el parénquima es uniforme. El número de estratos en empalizada es variable entre las especies, desde 4 hasta aproximadamente 13 (*CUADRO 3*). El parénquima de reserva tanto en la zona cortical tiene células redondeadas u ovaladas. En todas las especies son visibles células y cavidades mucilaginosas (*FIGURAS 2B-D*); no obstante, la abundancia y distribución varía entre los taxones (*CUADRO 3*).

El sistema vascular está constituido por un anillo de haces vasculares colaterales abiertos que conforman la eustela (*FIGURA 2B*) y por haces pequeños y de escasa complejidad, los cuales se encuentran dispersos en la corteza y la médula (*FIGURAS. 2B-C*). Son evidentes casquetes esclerenquimáticos en *H. lemairei*, *M. curvispinus* (*FIGURA 2G*), *O. caracasana*, *R. baccifera* (*FIGURA 2B*) y *S. inermis*; destaca *E. hookeri*, ya que presenta una banda casi continua de esclerénquima, limitando con el anillo vascular y casquetes esclerenquimáticos en los haces dispersos (*FIGURA 2C*); el resto de las especies no tienen esclerénquima sobre el floema (*FIGURA 2E*). Por otra parte, *A. tetragonus* tiene células alargadas, de lumen amplio y paredes gruesas asociadas a los haces (*FIGURAS 2H-I*). El xilema de todas las especies está constituido mayormente por células conductoras de diámetro pequeño (*FIGURAS 2B, 2E, 2G-H*).

CUADRO 3. Algunas características anatómicas de los tallos de las especies de Cactaceae estudiadas.

TAXONES	NÚMERO CAPAS HIPODERMIS	GROSOR HIPODERMIS (µm)	CÉLULAS O CAVIDADES MUCILAGINOSAS
M. curvispinus	12-13	497	Escasas en toda la sección
P. moritzianus	4-5	142	Muy abundantes en toda la sección
P. euchlorus	2	61	Abundantes en corteza, escasas médula
S. russelianus	2	84	Abundantes en corteza, ausentes en zona medular
E. hookerii	1-2	57	Escasas en corteza
H. lemairei	4-5	223	Abundancia moderada, en toda la sección
S. inermis	2-3	72	Abundantes en corteza y escasas en médula
A. tetragonus	3-4	89	Abundancia moderada en toda la sección
S. griseus	10-13	162	Muy abundantes en toda la sección
R. baccifera	1-2	54	Abundancia moderada en corteza y escasas en la médula
C. caribaea	4-5	65	Abundantes en médula y escasas en corteza
O. cf. *bisetosa*	4	72	Abundantes, en toda la sección
O. caracasana	6-8	137	Abundantes en toda la sección

La médula está constituida por células parenquimáticas, redondeadas, de diferentes tamaños con granos de almidón y con cristales en algunos de los taxones (*FIGURA 2F*). En esta región son evidentes células o cavidades con mucílago en casi todas las especies (*CUADRO 3*). En *R. baccifera* las células de esta región sufren esclerificación de sus paredes (*FIGURA 2B*).

Son evidentes cristales de morfología y localización variable en la mayoría de las especies, pero su caracterización será abordada en otro artículo.

DISCUSIÓN

El arreglo histológico de los tallos resultó bastante similar entre las especies estudiadas; no obstante, hay algunas características que las distinguen.

El grosor de la cutícula más la pared celular externa resultó con valores inferiores a 10 µm en la mayoría de los taxones. Por lo que, considerando los rangos propuestos por Waldhoff (2003) para hojas (valores <2 µm grosor medio y >9 µm muy gruesa), varía de medianamente gruesa a muy gruesa. Terrazas & Arias (2003), indicaron que en las cactáceas dicho grosor puede variar entre 1 y 25 µm, por lo que los valores obtenidos son bajos a medios. Estos autores indican que el valor taxonómico de este carácter es limitado, ya que puede cambiar de acuerdo a las condiciones ambientales del sitio donde se desarrolla una planta. Además, este rasgo no puede relacionarse con el biotipo, debido a que se presenta tanto en arbustos como en hierbas y epífitas. La deposición de cutículas gruesas se considera un rasgo de adaptación en hábitat xéricos, ya que disminuye la transpiración cuticular (Gibson & Nobel, 1986). Los valores obtenidos en *R. baccifera* se corresponden con los reportados por Dettke & Milaneze-Gutierre (2008), quienes la catalogan como moderadamente gruesa.

La epidermis resultó uniestratificada en todas las especies, lo cual es común en las Cactaceae (Loza-Cornejo & Terrazas, 2003); sin embargo, llaman la atención la forma y arreglo de sus células (sección transversal) en *C. caribaea* y *R. baccifera*, ya que en la primera son frecuentes células cónicas, las cuales dan cierta protección, al reflejar los rayos de sol o proporcionando algo de sombra a los tejidos subyacentes (Bravo-Hollis, 1978); mientras que en la segunda definen las depresiones o canales longitudinales observados en vista frontal, también señalados por Dettke & Milaneze-Gutierre (2008) en dicha especie. Depresiones semejantes han sido referidas para *R. teres* (Vell.) Steud. y son consideradas de interés en la delimitación taxonómica de especies incluidas en el género *Rhipsalis* (Calvente *et al.*, 2008). En la literatura se indica que *S. griseus* tiene una epidermis multiestratificada producto de divisiones en la capa epidérmica luego de diferenciarse la cutícula (Terrazas *et al.*, 2005), la cual no fue vista en este estudio, es probable que las ramas estudiadas en dicho trabajo fuesen más adultas, ya que las recolectaron en las porciones basales de los tallos.

En vista paradérmica, todas las especies muestran células con paredes rectas a ligeramente onduladas con poca variación en el grosor de sus paredes; llaman la atención las paredes muy onduladas en *M. curvispinus* ssp. *curvispinus*, carácter del que no se conoce su

ventaja selectiva (Loza-Cornejo & Terrazas, 2003). Mauseth (1988) indicó que éstas pueden ser producto de la condición ambiental reinante cuando las células estaban en diferenciación. La mayoría de los trabajos refieren células epidérmicas poligonales (Loza-Cornejo & Terrazas, 2003; Terrazas *et al.,* 2005; Calvante *et al.,* 2008); sin embargo, en *Bergerocactus emoryi* (Engelm.) Britton & Rose y *Peniocereus fosterianus* Cutak se ha señalado la presencia de paredes onduladas (Loza-Cornejo & Terrazas, 2003), las cuales han sido referidas también en especies de Opuntioideae, donde fueron observadas en las porciones apicales de los tallos, pero no en las basales y medias (Pereira de Arruda & Melo de Pinna, 2015). Se ha indicado que este carácter parece constituir una herramienta taxonómica importante en algunos grupos de las Cactoideae (Loza-Conejo & Terrazas, 2003; Calvente *et al*., 2008), pero que puede variar de acuerdo a la procedencia del segmento de tallo analizado (Lemos & Melo de Pinna, 2011).

Los tipos de estoma observados, paracíticos y duploparacíticos, son los citados frecuentemente para Cactaceae (Terrazas *et al.,* 2005; Dos Santos-García *et al*., 2012). La mayoría de los taxa tienen estomas al mismo nivel que el resto de células epidérmicas, lo cual es frecuente en Cactaceae a diferencia de otras xerófitas (Loza-Conejo & Terrazas, 2003; Soffiatti & Angyalossy, 2007) y se ha vinculado con una movilización rápida de gases durante la apertura estomática, pudiendo representar una adaptación para el mecanismo fotosintético CAM (Gibson & Nobel, 1986). Solo dos de los taxa resultaron con estomas hundidos, lo cual constituye un mecanismo para incrementar la resistencia a la pérdida de agua (Fahn & Cutler, 1992). La densidad estomática se corresponde con la referida para otras Cactaceae, pudiendo considerarse baja, tal como lo señalan Terrazas & Mauseth (2002). Todas las especies muestran valores que se encuentran en el rango inferior del intervalo señalado por Gibson & Nobel (1986) para las Cactoideae (18-60 estomas/mm^2).

La hipodermis presente en la mayoría de los cactus, ha sido referida como un tejido colenquimatoso, formado por un número variable de estratos celulares (Loza-Cornejo & Terrazas, 2003; Terrazas *et al*., 2005; Calvante *et al*., 2008; Dettke & Milaneze-Gutierre, 2008; Dos Santos-García *et al.,* 2012). La hipodermis da consistencia y solidez a las porciones blandas de los tallos estudiados. Se ha señalado que su función es dar soporte y constituir una barrera protectora ante patógenos (Mauseth, 1988). Hay autores que la consideran junto a la epidermis, "la piel" del tallo, la cual adicionalmente favorece la preservación del agua y la defensa contra la radiación solar (Gibson & Nobel, 1986). A pesar de la variabilidad observada en su grosor, en todos los casos son evidentes cámaras subestomáticas, de mayor o menor longitud, las cuales facilitan el flujo de gases, a pesar de lo grueso que sea el tejido colenquimatoso.

En la mayoría de las especies se diferencia clorénquima en empalizada con un número variable de capas y características semejantes al de las hojas de otras dicotiledóneas, ya que está formado por células alargadas, de paredes delgadas y abundantes cloroplastos. Las dos especies en las que no se distingue (*E. hookerii* y *R. baccifera*) son cactus epífitos. Calvente *et al.* (2008) indicaron que la subdivisión empalizada-reservante no ocurre en muchas especies con ese biotipo. El clorénquima es relevante para que las especies puedan cumplir eficientemente el proceso de fotosíntesis, dado que carecen de láminas foliares, tal como lo señalan Sajeva & Mauseth (1991). Las células corticales más internas son reservorios de agua y en ocasiones de almidón, tal como se ha indicado en los diversos trabajos revisados, señalándose que muchas de ellas tienen la capacidad de contraerse y expandirse dependiendo de la disponibilidad de agua (Mauseth, 2006), este rasgo es más evidente en especies con tallos de mayor desarrollo, ej. especies de *Opuntia*.

En estos tallos abunda también en la médula, el parénquima reservante, tanto de agua como de diversos polisacáridos. La presencia de células esclerificadas en *R. baccifera* es un rasgo no señalado en el trabajo de Dettke & Milaneze-Gutierre (2008) para esta misma especie, pero presente en otras cactáceas epífitas.

Otro rasgo común en las especies, es la diferenciación de células y cavidades mucilaginosas, observándose variación en su localización y abundancia. Su presencia ha sido señalada de valor sistemático, ya que se desarrollan en algunos géneros y en otros no (Bravo-Hollis, 1978). No obstante, fueron observadas en todos los taxa caracterizados en esta investigación.

En cuanto al tejido vascular, se ha indicado que es frecuente la diferenciación de haces conductores por dentro y fuera de la estela con orientación variable. En general, los haces observados son semejantes en su constitución a los observados en otras cactáceas (Terrazas *et al*., 2005). Los vasos de diámetro pequeño probablemente facilitan la conducción de agua (Terrazas & Loza-Cornejo, 2003). En la mayoría de los casos no están asociados con esclerénquima. Cabe destacar, que las células observadas en *A. tetragonus* se parecen bastante a las identificadas en sección transversal del tallo de *Austrocylindropuntia subulata* (Muehlenpf.) Backeb. por Arruda (2010) como traqueidas vasculares de banda ancha, sin embargo, la sección longitudinal de las mismas en *A. tetragonus* no muestra los engrosamientos horizontales en las paredes, que definen a dichas células. Sería necesario hacer un estudio de las mismas en tallos adultos, ya que puede ser que aún no se hayan diferenciado completamente. A estas células se les atribuyen funciones conductoras y de almacenamiento de agua (Landrum, 2008).

Los resultados obtenidos aportan caracteres que contribuyen a la delimitación de las especies estudiadas, entre ellos destacan rasgos epidérmicos, como forma en sección transversal de las células epidérmicas, grado de ondulación de las paredes, estomas hundidos o no; además de éstos, el engrosamiento de las células hipodérmicas, presencia de casquetes de esclerénquima sobre haces vasculares, entre otros. Algunos de ellos son considerados influenciables por el ambiente, como es el caso del grado de ondulación de las paredes de las células epidérmicas. No obstante, estos caracteres aun por sí solos no permiten distinguir todas las especies y se requeriría el uso de mayor número de atributos para poder delimitar los diferentes taxones de Cactaceae, por la razón expuesta no se pudo presentar una clave.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTESOR, A. & E. EZCURRA. 2003. Functional morphology and evolution of stem morphology in cacti. *Journal Arid Environment* 53: 557-567.

ARNOTT H.J. 1982. Three systems of biomineralization in plants with comments on the associated organic matrix. In: *Biological mineralization and demineralization*. (G.H. Nancollas, (ed.), pp. 199-218. Springer Verlag, Berlin.

ARRUDA, E. 2010. *Histogênese de segmentos caulinares de especies de Opuntioideae (Cactaceae)*. Universidade de São Paulo, Brasil. 141 p. (Tese Doutor em Ciências).

AYALA-CORDERO, G., T. TERRAZAS, L. LÓPEZ-MATA and C. TREJO. 2006. Morpho-anatomical changes and photosynthetic metabolism of Stenocereus beneckei seedlings under soil water deficit. *Journal of Experimental Botany* 57(12): 3165-3174.

BARTHLOTT, W. & D.R. HUNT. 1993. Cactaceae. In: *The families and genera of vascular plants. Vol. II.* (Kubitzki, K., J.G. Rohwer and V. Bittrich, eds.). pp. 161-197. Springer-Verlag, Berlin. 653 p.

BRAVO-HOLLIS, H. 1978. *Las cactáceas de México*. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. DF, México. 743 p.

CALVENTE, A., R. ANDREATA & R.C. VIEIRA. 2008. Stem anatomy of *Rhipsalis* Cactaceae) and its relevance for taxonomy. *Plant Systematic Evolution* 276: 271-277.

DETTKE, G.A. & M.A. MILANEZE-GUTIERRE. 2008. Anatomia caulinar de espécies epífitas de Cactaceae, subfamilia Cactoideae. *Hoehnea* 35(4): 583-595.

DOS SANTOS GARCIA, J., E. SCREMIN-DIAS & P. SOFFIATTI. 2012. Stem and root anatomy of two species of *Echinopsis* (Trichocereeae: Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83: 1036-1044.

FAHN, A. & D.F. CUTLER. 1992. *Xerophytes*. Gebruder Borntraeger. Berlin. Xxp.

FERNÁNDEZ, A. 1995. Anatomy of species of *Opuntia* (Cactaceae) from Venezuela: I. Epidermal characteristics of *Opuntia lilae* Trujillo *et* Ponce. *Ernstia* 5: 49-72.

FERNÁNDEZ, A. 1999. Anatomy of the species *Opuntia* (Cactaceae) from Venezuela: Part II. Stomatogenesis in *Opuntia bisetosa* Pittier, *Opuntia boldinghii* Britton *et* Rose, *Opuntia elatior* Miller, *Opuntia schumannii* F.A.C. Weber, and *Opuntia* sp. nov. (inedit). *Ernstia* 8: 115-134.

GARCÍA A.M., T. TERRAZAS & S. ARIAS. 2009. Anatomía caulinar de tres especies del género *Hylocereus* (Berger) Britton & Rose (Cactaceae) en México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(3): 201-208.

GIBSON, A.C. 1973. Comparative anatomy of secondary xylem in Cactoideae (Cactaceae). *Biotropica* 5: 29-65.

GIBSON, A.C. & P.S. NOBEL. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press, Cambridge, London. 286 p.

HOKCHE, O., O. HUBER & P. BERRY. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Caracas. 859 p.

JOHANSEN, D. 1940. Plant microtechique. McGraw Hill, New York. 523 p.

KRAUSS J.E. & M. ARDUIN. 1997. Manual básico de métodos en morfología vegetal. Universidade Rural, São Paulo.

LANDRUM, J.V. 2008. Wide-Band tracheids from a Southern African succulent and their responses to varying light intensities: a pre-adaptation for future water stress?. *International Journal of Botany 4*(1): 99-103.

LEMOS, R.C.C. & G.F.A. MELO-DE-PINNA. 2011. Morpho-anatomical variations during stem development in some epiphytic Cactaceae. *Journal Torrey Botanical Society.* 138: 16-25.

LEÓN, W. 2001-2002. Anatomía xilemática del tronco de *Pereskia guamacho* (Cactaceae) procedente del estado Mérida, Venezuela. *Pittieria* 31: 41-49.

LINDORF, H. 1994. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. *IAWA Journal* 15: 361-376.

LOZA-CORNEJO, S. & T. TERRAZAS. 2003. Epidermal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). *Journal Research* 116: 27-35.

MAUSETH, J.D. 1988. *Plant Anatomy*. Addison Wesley/Benjamin Cummings. San Francisco, California. 560 p.

MAUSETH, J.D. 2006. Structure-function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Annals of Botany* 98: 901-926.

MÉRIDA T. & L. ARIAS. 1979. Estudios fisioecológicos en plantas de las zonas áridas y semiáridas de Venezuela III: Desarrollo de gloquideas por efecto de ácido abscísico (ABA) en plántulas de *Cereus griseus* Haw. (Cactaceae). *Acta Cientifica Venezolana* 30: 162-166.

PEREIRA DE ARRUDA, E.C. e G.F. MELO-DE-PINNA. 2015. Caracteres anatômicos do segmento caulinar em espécies da subfamília Opuntioideae (Cactaceae). *Hoehnea* 42(2): 195-205.

SAJEVA, M. & J.D. MAUSETH. 1991. Leaflike structure in the photosynthetic, succulent stems of cacti. *Annals of Botany* 68: 405-411.

SOFFIATTI, P. & V. ANGYALOSSY. 2007. Anatomy of Brazilian Cereeae (subfamily Cactoideae, Cactaceae): *Arrojadoa* Britton & Rose, *Stephanocereus* A. Berger and *Brasilicereus* Backeberg. *Acta Botanica Brasilica* 21(4): 813-822.

TERRAZAS T. & S. ARIAS. 2002. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. *Botanical Review* 68: 444-473.

TERRAZAS T. & J.D. MAUSETH. 2002. Shoot anatomy and morphology. In: Cacti: Biology and Uses. (P.S. Nobel ed.), pp: 23-40. University of California Press. Berkeley, California. 290 p.

TERRAZAS T. & S. LOZA-CORNEJO. 2003. Anatomía de la madera y alometría de veinte especies de *Stenocereus* (Cactaceae). *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Botánica* 74: 195-208.

TERRAZAS, T., S. LOZA-CORNEJO & H. ARREOLA. 2005. Anatomía caulinar de las especies del género *Stenocereus* (Cactaceae). *Acta Botanica Venezuelica* 28: 321-336.

WALDHOFF, D. 2003. Leaf structure in trees of Central Amazonian floodplain forests (Brazil). *Amazoniana* XVII: 451-469.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria 41
ENERO-DICIEMBRE 2017
págs. 40—69

CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR DE VIRUS DE PLANTA PORTANDO UNA SECUENCIA MUTAGENIZADA DEL GEN *NEF* DEL HIV-1

CONSTRUCTION OF A VECTOR OF PLANT VIRUS CARRYING A MUTAGENIZED SEQUENCE OF HIV-1 *NEF* GENE

por

ARNALDO M. NOGUERA A.[1]

[1] Ingeniero Agrónomo, Candidato a Doctor en Biología Celular, Profesor Instructor, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
a.noguera@ula.ve

RECIBIDO: septiembre 20 de 2016 / **ACEPTADO:** abril 27 de 2017

RESUMEN

Los vectores de virus de plantas representan una alternativa excelente como sistema de expresión de proteínas heterólogas, especialmente de biofármacos y vacunas multicomponentes. Diferentes antígenos del HIV-1 han sido expresados exitosamente en plantas a través de sistemas de transformación estable o expresión transitoria. Dentro del grupo de proteínas que componen el virión del HIV, Nef es considerada un blanco promisorio para la formulación de vacunas debido al papel que desempeña durante los primeros pasos de la infección viral. En el presente trabajo se reportan los resultados de la construcción de una quimera viral portando una secuencia modificada del gen *nef* del HIV-1. Se introdujeron dos sustituciones puntuales en los sitios reconocidos por las enzimas de restricción *Xho*I y *Kpn*I utilizando la técnica de amplificación por PCR. Con este propósito se emplearon dos cebadores mutagénicos y dos silvestres en tres rondas de amplificación por PCR para cada sustitución. Los amplicones portadores de la doble mutación fueron ligados al vector de expresión viral pTMV30B-GFPC3, y se multiplicaron por transformación en células de *E. coli* XL1-blue; los cuales fueron posteriormente purificados y analizados por digestión y secuenciación. Los productos de la transcripción *in vitro* de esta quimera se inocularon en plantas de *Nicotiana benthamiana*, y la infectividad de los transcriptos se validó por sintomatología y RT-PCR. Los resultados demostraron que la quimera viral construida produjo transcriptos infectivos capaces de inducir síntomas característicos en las plantas inoculadas; lo cual abre la posibilidad para desarrollar una vacuna anti-HIV producida en plantas.

PALABRAS CLAVE: Infectividad; mutagénesis sitio-dirigida; quimera viral; transcripción *in vitro*; virus de inmunodeficiencia humana.

ABSTRACT

The vectors of plant virus represent an excellent alternative as expression system of heterologous proteins especially of biopharmaceuticals and multicomponent vaccines. Different HIV-1 antigens have succesfully been expressed in plants through stable transformation systems or transitory expression. Among the proteins group that compound the HIV virion, Nef is cosidered a promissing target to vaccine formulation due to the role it develops during the first viral infection steps. In the present study, the results of the construction of a viral chimera carrying a modified sequence of HIV-1 nef gene are reported. Two puntual substitutions were introduced in the sites recognized by the *Xho*I and K*pn*I restriction enzymes using the amplification technique by PCR. With this purpose, two mutagenic and two wild primers were used in three amplification rounds by PCR for each substitution. The amplicons carrying the double mutation were linked to the pTMV30B-GFPC3 viral expression vector and were multiplied by transformation in *E. coli* XL1-blue cells, which were purified and analyzed later by digestion and sequencing. The *in vitro* transcription products of this chimera were inoculated in *Nicotiana benthamiana* plants, and the infectivity of the transcripts was validated by sintomatology and RT-PCR. The results showed that the constructed viral chimera produced infectious transcripts capable to induce characteristic symptoms in inoculated plants which opens the possibility to develop an anti-HIV vaccine produced in plants.

KEY WORDS: Infectivity; site-directed mutagenesis; viral chimera; *in vitro* transcription; human inmunodeficiency virus.

INTRODUCCIÓN

El virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (*Human immuno deficiency virus*, HIV-1) expresa proteínas estructurales (Env, Gag), enzimática (Pol), regulatorias (Tat, Rev) y accesorias (Nef, Vif, Vpr, Vpu); de las cuales el último grupo son prescindibles para la infección y replicación viral, pero son esenciales para la progresión de la enfermedad hacia SIDA en el hospedero susceptible (Yang & Gabuzda 1998; Flint & Enquist 2004; Carter & Saunders 2007; Malim & Emerman 2008; Dubé *et al*. 2010; Terán-Angel *et al*. 2016).

Dentro del conjunto de las proteínas accesorias, Nef ha recibido especial atención por su notoria capacidad para modular la respuesta inmune del hospedero y afectar su actividad biológica. Esta es una proteína miristoilada que posee una masa molecular entre 25 y 35 kDa (Shugars *et al*. 1993; Geyer *et al*. 1999; Geyer & Peterlin 2001), pero a nivel *in vitro* se han expresado dos isoformas predominantes. La primera de ellas una forma de 27 kDa (p27), miristoilada en su extremo N-terminal, dominio a través del cual se encuentra asociada a la membrana celular; y una forma citosólica truncada de 25 kDa (p25) traducida a partir de un segundo codón de inicio y carente de los primeros 18 amino ácidos (Marusic *et al*. 2007). Esta proteína es expresada en las primeras etapas de la infección y desempeña un papel esencial durante todos los estados de desarrollo de la enfermedad; ya que a pesar de ser una proteína pequeña presenta un área superficial relativamente grande que le permite interactuar con múltiples proteínas del hospedero para favorecer la evasión inmune. Este determinante de patogenicidad multifuncional se puede localizar en el interior de la célula, en donde afecta el tráfico intracelular a través de su interacción con sustratos como las proteínas adaptadoras de clatrina (AP1/2), proteínas asociadas a la proteasa Furina (PACS–1/2) y componentes del transporte endosomal (COP–I) (Roeth & Collins 2006; Malim & Emerman 2008; Salmen *et al*. 2015); también se puede encontrar asociado con la membrana plasmática en cuyo caso altera múltiples vías de señalización, principalmente aquellas relacionadas con el funcionamiento del receptor CD4 y con antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase I. Además modula la producción de anión superóxido a través de su interacción con p22-phox, un componente del complejo NADPH-oxidasa (Salmen *et al*. 2010) y la supresión del silenciamiento viral mediado por el complejo Ago2–RISC, el cual es empleado por la célula hospedera durante los eventos de silenciamiento génico post-transcripcional para contrarrestar la infección ocasionada por virus (Aqil *et al*. 2013).

Nef es una proteína que sólo se ha reportado para HIV-1, HIV-2 y lentivirus primates relacionados como el virus de inmunodeficiencia simia (*Simian immunodeficiency virus*, SIV). En humanos o macacos Rhesus infectados con HIV-1 o SIV, se demostró que individuos clasificados como no progresores a largo plazo presentaban alteraciones de este gen (Deacon *et al*. 1995; Tobiume *et al*. 2002). Esta marcada presión selectiva por mantener altamente conservada la secuencia del gen *nef*, ha hecho que esta proteína se convierta en un blanco terapéutico candidato para la formulación de vacunas que combinen componentes virales tanto estructurales como funcionales. Estudios promisorios del desarrollo de vacunas multicomponentes contra HIV-1, reportan evaluaciones pre-clínicas de una vacuna constituida por las proteínas recombinantes gp120 y la fusión Nef-Tat (Goepfert *et al*. 2007), así como los efectos de una vacuna genética multicomponente combinando antígenos estructurales (Gag/Pol, Env) y regulatorios (Tat, Rev, Nef), esto en un modelo animal macaco-SIV (Maggiorella *et al*. 2007). Por esta razón la respuesta inmune dirigida contra esta proteína viral puede ayudar a controlar los pasos iniciales de la infección por HIV-1 y reducir la carga y la expansión viral (Marusic *et al*. 2001).

Ambas isoformas de Nef (p25 y p27), han sido expresadas en diferentes sistemas biológicos tales como *E. coli* (Azad *et al*. 1994; Salmen *et al*. 2010); levaduras (Sirén *et al*. 2006); células de insectos (Kohleisen *et al* 1996); y células vegetales a través de estrategias de expresión estable en plantas transgénicas y transitoria utilizando los vectores de virus de plantas (Marusic *et al*. 2007; Avesani *et al*. 2007; Barbante *et al*. 2008; de Virgilio *et al*. 2008; Zhou *et al*. 2008; Lombardi *et al*. 2009; Kagale *et al*. 2012). No obstante, el sistema de expresión transitorio basado en la manipulación de genomas de plantas y virus que infectan plantas, ha resultado el más atractivo en la actualidad por cuanto presenta las siguientes ventajas: ausencia de riesgo de contaminación con patógenos animales, bajo costo (especialmente para la producción a gran escala), alto rendimiento de la proteína foránea, anticuerpos ensamblados apropiadamente o con un plegamiento proteico equivalente al encontrado en otros sistemas eucarióticos, posibilidad de expresar anticuerpos humanizados, expresión de vacunas múltiples en un mismo órgano vegetal comestible, facilidad de manejo de plantas en invernadero, rápida distribución de plantas a escala mundial y posibilidad de producir vacunas comestibles para la vacunación masiva (Noguera & Fermín 2013).

Por otra parte, el uso conjunto de esta estrategia de expresión de proteínas heterólogas con otras herramientas de la biología molecular como la mutagénesis sitio-dirigida o sitio-específica, por sus siglas en inglés SSM y SDM respectivamente; ha resultado de mucho valor en el diseño y construcción de estos vectores quiméricos; ya que permite realizar manipulaciones o alteraciones más controladas de los genes de interés. En este sentido, la SDM dirigida por oligonucleótidos (cebadores) sintéticos, en la cual se alteran los genes en el ADN clonado a través de amplificaciones por PCR, resulta ser un método muy poderoso que permite realizar sustituciones, inserciones o deleciones de una o más bases en una secuencia específica de nucleótidos (Carter 1986; Ho *et al*. 1989; Vallette *et al*. 1989; Nassal & Rieger 1990; Hall & Emery 1991; Yao *et al*. 1992; Weiner *et al*. 1993, 1994; Silvestrov *et al*. 2014; Xia *et al*. 2015; Frandoloso *et al*. 2015). La estrategia es sorprendentemente efectiva, pero laboriosa; dado que requiere dos cebadores mutagénicos, dos cebadores silvestres (nativos) que flanquean la secuencia de interés, tres rondas de amplificación por PCR por cada mutación que se desea introducir (Ho *et al*. 1989; Sambrook & Russell 2001) y de dos a tres pasos de purificación de los productos de la

amplificación. Además, la verificación de la estrategia involucra secuenciación precisa de la región de interés a fin de comprobar que sólo se ha producido el cambio que se desea.

En el presente estudio se reporta la construcción de una quimera viral infectiva basada en genes de los virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*, TMV), del mosaico verde suave del tabaco (*Tobacco mosaic green mosaic virus*, TMGMV) y del HIV-1, y su posterior validación a través de ensayos de digestión, secuenciación y pruebas de RT-PCR. Además se demuestra el uso del método de la extensión solapada para crear una mutagénesis sitio-dirigida, en la que se alteraron las secuencias de nucleótidos reconocidas por las endonucleasas de restricción (ERs) *Xho*I y *Kpn*I ubicadas en el gen *nef*. La razón por la cual se planteó esta estrategia se debe al hecho de que los sitios de restricción que se desean alterar dentro del gen *nef* también se encuentran dentro de la secuencia del vector de expresión viral pTMV30B-GFPC3 (p30B) en el cual se propuso clonar el gen señalado *(FIGURAS 1 y 2)*. La secuencia de reconocimiento de *Xho*I se ubica específicamente en el sitio de clonación múltiple de este vector viral, mientras que la secuencia reconocida por la ER *Kpn*I se localiza en el extremo 3' del casete de expresión. Esta última enzima es la que se emplea en este sistema de expresión heteróloga para linearizar el plásmido recombinante p30B previo a la reacción de transcripción *in vitro*, cuyo propósito es producir clones de ARN infectivos del virus del mosaico del tabaco para su inoculación en plantas (Shivprasad *et al*. 1999).

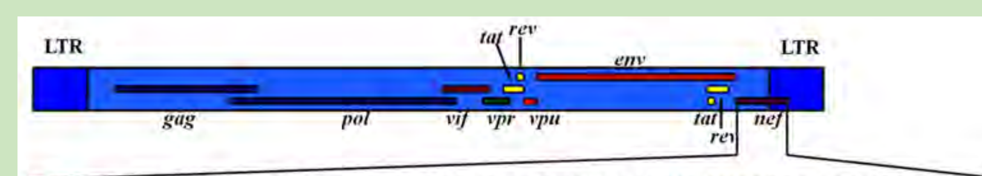
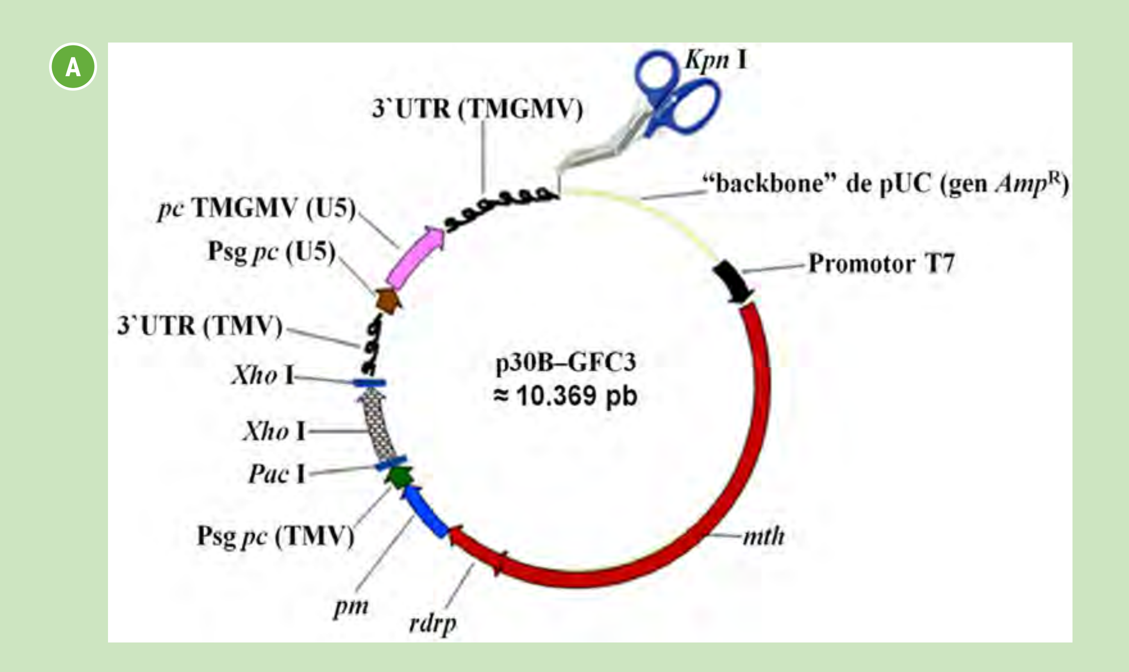


FIGURA 1. Estructura del genoma del VIH-1 mostrando los genes que codifican para las proteínas estructurales internas (*gag*), estructurales externas (*env*), enzimáticas (*pol*), auxiliares regulatorias (*tat* y *rev*) y auxiliares accesorias (*vif*, *vpr*, *vpu* y *nef*), adaptado de Flint *et al*. (2004). En la secuencia del gen *nef* detallada se encuentran señalados en cursiva los codones de inicio (ATG) y terminación (TGA) de la transcripción, así como las secuencias de nucleótidos reconocidas por las ERs *Xho*I (CTCGAG) y *Kpn*I (GGTACC) que se representan subrayadas.



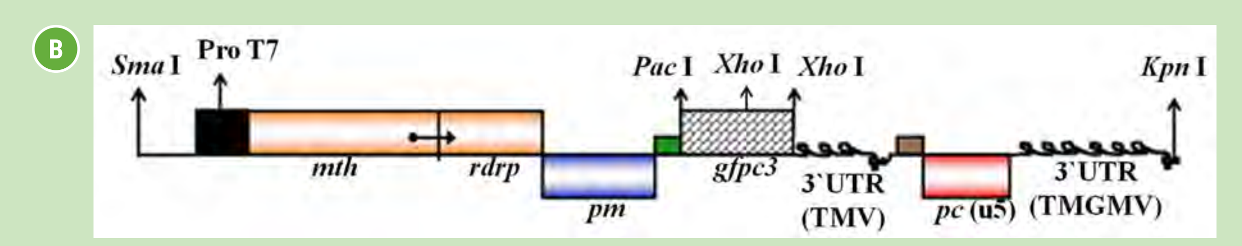


FIGURA 2. Estructura del vector de clonación/expresión viral p30B-GFPC3 antes [A] y después [B] de ser linearizado con la ER *Kpn*I, adaptado de Shivprasad *et al*. (1999), Fauquet *et al*. (2005) y Meyers *et al*. (2008). Los tres primeros genes pertenecen al virus del mosaico del tabaco (TMV). El primero de ellos codifica para una proteína con dos dominios funcionales: uno metiltransferasa que actúa añadiendo un residuo de metilguanosina (M_7G) al extremo 5' del ARN recién sintetizado (encabezamiento), y un dominio C-terminal que tiene similitud con ARN helicasas. El segundo marco de lectura codifica para la replicasa viral (R) o ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), y el tercero para la proteína de movimiento (PM). La caja de rectángulos simboliza el marco de lectura de la proteína fluorescente verde (GFP por sus siglas en inglés), cuya expresión está bajo el control del promotor nativo del gen codificante de la proteína de la cápside (*pc*) del TMV. El quinto marco de lectura codifica para la proteína de cápside del virus del mosaico verde suave del tabaco (*Tobacco mild green mosaic virus*, TMGMV). Se muestran las regiones 3' no traducidas (3'UTR) del TMV (3 pseudonudos) y del TMGMV (6 pseudonudos). Las cajas verde y marrón representan los promotores sub-genómicos nativos de la PC del TMV y del TMGMV, respectivamente. Con flechas se indican los sitios de reconocimiento para las ERs *Pac*I y *Xho*I utilizados para la inserción del gen de interés y el sitio *Kpn*I empleado para linearizar el plásmido previo a la reacción de transcripción *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las reacciones en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés, PCR), se realizaron utilizando la ADN polimerasa del sistema GoTaq®-Green (Promega). Las ERs *Pac*I, *Kpn*I y *Xho*I y la ADN ligasa del fago T4 fueron adquiridas en diferentes casas comerciales (Invitrogen, New England Biolabs, Promega). El plásmido de clonación pET-21d(+)-Nef (pETNef) portador de la secuencia del gen *nef* del VIH-1 fue gentilmente proporcionado por la Dra. Siham Salmen, del Instituto de Inmunología Clínica Louis Pasteur, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. El vector de clonación/expresión p30B fue donado por el Dr. William Dawson del Departamento de Patología de Plantas, Universidad de Florida, California. Las secuenciaciones de cada paso hasta obtener el producto génico modificado se realizaron a partir del ADN plasmídico del vector p30B a través del método de Sanger automatizado (Eurofins, MWG-Operon, Huntsville, Alabama).

DISEÑO DE CEBADORES

El diseño de los cebadores se realizó empleando los programas bioinformáticos OligoExplorer 1.1.2 y AnnHyb 3.5 beta 15. Se diseñaron tres pares de cebadores para introducir dos mutaciones sitio-específicas utilizando el método de extensión solapada por PCR (Craik 1985; Carter 1986; Ho *et al.* 1989; Weiner *et al.* 1994; Sambrook & Russell 2001). Los sitios de restricción para las endonucleasas *Pac*I (TTAAT▾TAA) y *Xho*I (C▾TCTGAG) se introdujeron en los cebadores forward (FS) y reverse (RS) silvestre, respectivamente, mientras que las sustituciones puntuales para modificar las secuencias de restricción reconocidas por las ERs *Kpn*I y *Xho*I se realizaron en marco de lectura a través de los cebadores forward (FM) y reverse (RM) mutantes ***(CUADRO 1)***.

CUADRO 1. Cebadores empleados para introducir las mutaciones puntuales en las secuencias de reconocimiento de las enzimas de restricción *Kpn*I (GGTAC▾C) y *Xho*I (C▾TCTGAG).

CEBADOR	SECUENCIA*	Tm (°C)
FS	GTCTCATTAATTAAATGGGTGGCAAGTGGTCAAAA	60,6
RS	GACCATCTCGAGTCAGTGGTGGTGGTGGTGGTG	68,0
FM-KpnI	CCAGTCACACCTCAGGTCCCTTTAAGACCAATG	70,3
RM-KpnI	CATTGGTCTTAAAGGGACCTGAGGTGTGACTGG	70,3
FM-XhoI	GTGGGAGCAGTATCGCGAGACCTAGAAAAACAT	69,3
RM-XhoI	ATGTTTTTCTAGGTCTCGCGATACTGCTCCCAC	69,3

*Las secuencias de los cebadores están escritas en sentido 5'→3'; los sitios reconocidos por las ERs *Kpn*I y *Xho*I se encuentran subrayados y la base sustituida dentro de la secuencia de reconocimiento de las respectivas ERs se encuentra en negrita.

OBTENCIÓN DE LOS PRODUCTOS DE PCR MODIFICADOS

Los productos de la amplificación por PCR portadores de las mutaciones puntuales se obtuvieron utilizando la ADN polimerasa GoTaq®Green (Promega) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Por cada sustitución puntual se utilizaron dos cebadores mutagénicos (FM y RM), dos cebadores silvestres que flanquean el gen de interés (FS y RS) y tres rondas separadas de amplificación por PCR. La amplificación de los fragmentos de ADN solapantes se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl, compuesto por 12,5 µl de la mezcla maestra (MM) de ADN polimerasa, 2.5 mM de $MgCl_2$ y buffer de reacción 1X (Promega) más 8 pmoles/µl de cada uno de los cebadores y 6 ng/µl de ADN plasmídico del vector pETNef. Las combinaciones de los juegos de cebadores, el tamaño esperado de los productos de la amplificación y los perfiles térmicos de la PCR para cada uno de los fragmentos del gen *nef*, se especifican en los ***CUADROS 2 y 3***.

La tercera ronda de amplificación por PCR, cuyo propósito era reamplificar el gen *nef* completo llevando las secuencias mutadas a través

CUADRO 2. Combinaciones de cebadores utilizados para amplificar el gen *nef* y tamaños esperados de los amplicones totales y parciales para este gen en pares de bases (pb).

CEBADOR		TAMAÑO ESPERADO DEL AMPLICÓN (pb)
FORWARD	REVERSE	
FS-Nef	RS-Nef	697
FS-Nef	RM-*Xho*I	133
FM-*Xho*I	RS-Nef	564
FS-Nef	RM-*Kpn*I	250
FM-*Kpn*I	RS-Nef	447

CUADRO 3. Perfiles térmicos empleados para la amplificación total o parcial del gen *nef* por PCR.

COMBINACIONES DE CEBADORES	ETAPA DE LA AMPLIFICACIÓN POR PCR					
	DESNATURALIZACIÓN		ANILLAMIENTO		EXTENSIÓN	
FS/RM-*Xho* I	94°C	1'	55°C	1'	72°C	1'
FM-*Xho* I/RS	94°C	1'	63°C	1'	72°C	1'
FS/RM-*Kpn* I	94°C	1'	55°C	1'	72°C	1'
FM-*Kpn* I/RS	94°C	1'	63°C	1'	72°C	1'
FS/RS	94°C	1'	55°C	1'	72°C	1'

Todas las reacciones fueron expuestas a una etapa de desnaturalización inicial a 94°C durante 5' y una extensión final de 72 °C durante 5'.

de una reacción de extensión solapada, se realizó en un volumen de 100 µl, consistiendo de 50 µl de MM, 0,1 nM de los cebadores FS y RS y 4 µl de cada uno de los amplificados parciales obtenidos en las dos primeras rondas de amplificación por PCR. El esquema de la estrategia metodológica de las amplificaciones por PCR realizadas se representa en la ***FIGURA 3***.

PURIFICACIÓN DE LOS AMPLICONES Y DEL ADN PLASMÍDICO

La purificación de los amplicones parciales obtenidos en las dos primeras rondas de amplificación por PCR se realizó fraccionando el ADN por electroforesis en geles de agarosa en buffer Tris-acetato (100 mM de Tris-HCl más 10 mM de EDTA pH 8,0), conteniendo 0,1 µg/ml de

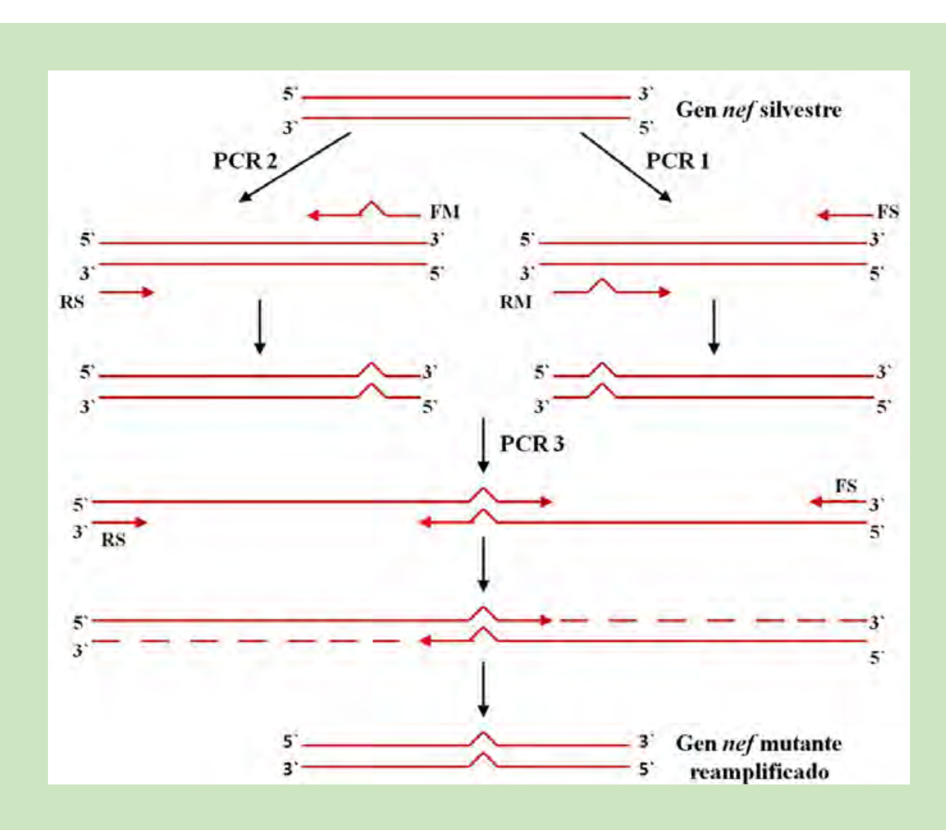


FIGURA 3. Diagrama esquemático de la mutagénesis sitio-específica por extensión solapada utilizando la amplificación por PCR, modificado de (Sambrook & Russell 2001). En las dos primeras rondas de amplificación por PCR se generan dos fragmentos separados del gen blanco (en nuestro caso, *nef*). El amplicón de la PCR 1 está delimitado por secuencias complementarias al cebador forward silvestre (FS) y uno reverse mutante (RM), mientras que el amplicón de la PCR 2 se encuentra delimitado por secuencias complementarias a un cebador forward mutante (FM) y uno reverse silvestre (RS). En la amplificación por PCR 3 se utilizan ambos cebadores silvestres para reamplificar la secuencia portadora de la mutación puntual. Las mutaciones puntuales se simbolizan como una línea quebrada en los cebadores FM y RM.

bromuro de etidio; la corrida electroforética se efectuó a 5 vol/cm. Las bandas de tamaño esperado se cortaron del gel y se purificaron utilizando el kit FavorPrep™ (Favorgen®) con algunas modificaciones. Los productos de la tercera amplificación (reamplificación) se purificaron mediante una extracción orgánica con cloroformo, precipitación con acetato de amonio 10 M más dos volúmenes de etanol absoluto y posteriores lavados con etanol 70%. El ADN plasmídico de los vectores de clonación pETNef y p30B se purificaron de la misma forma que se procedió con los productos de la reamplificación del gen *nef*.

ENSAYOS DE DIGESTIÓN ENZIMÁTICA

Con el propósito de validar la introducción exitosa de las mutaciones puntuales, los productos del gen *nef* reamplificado se expusieron a digestiones separadas con las ERs *Kpn*I y *Xho*I (Promega). Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 µl, compuestas de 2 µl de buffer de digestión 10X, 0,2 µl de albúmina sérica bovina acetilada (BSA) (10 µg/ml), 0,3 U (unidades) de enzima y 1 µg/µl de los productos de la amplificación por PCR. La mezcla se incubó a 37ºC durante 1 hora ó 16 horas. Estas mismas condiciones experimentales fueron utilizadas en digestiones previas del gen *nef* sin modificar.

DIGESTIÓN SIMULTÁNEA DEL INSERTO Y DEL VECTOR

Previo a la reacción de ligación del ADN plasmídico del vector p30B con el inserto *nef* modificado, ambas moléculas se expusieron a una digestión simultánea con las ERs *Pac*I y *Xho*I. El sistema de digestión consistió de 2 µl de buffer 4 (New England Biolabs), 0,2 µl de BSA y 0,3 U de cada una de las ERs. La mezcla de reacción se completó a 20 µl con agua estéril libre de nucleasas y se incubó a 37ºC durante 16 horas.

LIGACIÓN Y TRANSFORMACIÓN

La reacción de ligación se realizó empleando el método "Coffee Break Ligation" propuesto por Yoshino *et al.* (2007), para lo cual se ajustaron las concentraciones de ADN molde del inserto y del vector a 2 y 6 ng/µl, respectivamente. El buffer de ligación estaba compuesto por 66 mM de Tris/HCl pH 7,6, 6,6 mM de $MgCl_2$, 5 µl de β-ME/ml, 0,5 mM de ATP, 14% de PEG 6000, 25 ng/µl de ASB y 0,02 U/µl de ligasa, la cual se diluyó previamente en el mismo buffer de ligación. La mezcla de reacción se completó a 20 µl con agua destilada estéril y se incubó a 20ºC durante 10 min. Seguidamente se procedió a transformar células competentes de *E. coli*, cepa XL1-Blue preparadas por el método del TSS propuesto por Chung *et al.* (1989). La selección de los clones transformantes se realizó en medio LB agarizado suplementado con 12,5 µg/ml de tetraciclina más 100 µg/ml de ampicilina.

SECUENCIACIÓN DE LOS AMPLICONES MUTADOS

Con el propósito de confirmar los resultados observados en los ensayos de digestión, los productos de la amplificación por PCR del gen *nef* reamplificado y clonado en el vector p30B se purificaron utilizando el kit AxyPrep Plasmid™ (Axygen®) con algunas modificaciones. El análisis del producto purificado se realizó por electroforesis en geles de agarosa con las mismas condiciones señaladas en el punto de

purificación de los productos de la PCR. Las muestras así procesadas se resuspendieron en una concentración de 100 ng/µl para su secuenciación mediante el método de Sanger (Eurofins, MWG-Operon, Huntsville, Alabama).

TRANSCRIPCIÓN "IN VITRO"

Los transcriptos de ARN portando un análogo de metilguanosina (5`7MeGpppG5`) en el extremo 5`-UTR, se sintetizaron utilizando el sistema de producción de ARN a gran escala RiboMAX™ (Promega, Madison, WI) con algunas modificaciones. Con este propósito el ADN del vector p30B portando el gen *nef* modificado (p30BNefM), linearizado previamente con la ER *Kpn*I, se sometió a una reacción de filling-in (Promega, Madison, WI; Sambrook y Russell, 2001) utilizando 2,5 U/µl de ADN polimerasa del bacteriófago T4 en presencia de 2 mM de dGTP durante 10 min a 37ºC, seguido por inactivación a 70ºC durante 5 min. La reacción final estaba compuesta por una mezcla de buffer de transcripción 5X, 100 mM de DTT, 25 mM de cada rATP, rCTP, rUTP, 3 mM rGTP, 5 mM de m^7G, 40 u/µl de RNasin, 1 mg/ml de albúmina sérica bovina desacetilada y 20 u/µl de ARN polimerasa del fago T7. La reacción se incubó a 37ºC durante 2 horas.

INOCULACIÓN DE PLANTAS CON TRANSCRIPTOS "IN VITRO"

El ARN viral quimérico se diluyó en un volumen de buffer fosfato de sodio 30 mM, pH 8,0 en agua-DEPC libre de RNasas. La mezcla se utilizó para inocular mecánicamente plantas de *Nicotiana benthamiana* en estado vegetativo (4 hojas típicas), las cuales habían sido previamente tratadas con un período de oscuridad durante 24 horas. Previo a la inoculación de los transcriptos virales la superficie de las hojas se cubrieron con Carburundum 600 mesh. Como control negativo se utilizarán plantas de la misma especie rociadas sólo con abrasivo y buffer de inoculación. Una vez culminado el proceso de inoculación las hojas se lavaron con agua-DEPC. Las plantas se mantuvieron en invernadero con fotoperíodo natural y termoperíodo de 25±10ºC. El material tratado se observó diariamente hasta la aparición de síntomas.

EXTRACCIÓN DE ARN TOTAL A PARTIR DE PLANTAS INOCULADAS CON TRANSCRIPTOS "IN VITRO"

El aislamiento del ARN total a partir de plantas inoculadas con el ARN viral quimérico producido "*in vitro*", se realizó utilizando el reactivo TRIzol™ (Invitrogen). La concentración y la pureza se determinaron midiendo la absorbancia a 260 nm (A_{260}) y 280 nm (A_{280}) en un espectrofotómetro modelo Biowave DNA (Biochrom Ltd, UK); mientras que la integridad y el tamaño del ARN total se determinó a través de electroforesis en geles de agarosa y tinción con bromuro de etidio.

RT–PCR A PARTIR DE ARN TOTAL

El ARN total aislado y purificado se utilizó para establecer la síntesis de la primera banda de ADN a través del sistema ImProm-II™ (Promega, Madison, WI.). La producción de la hebra de ADN complementario se realizó a partir de una muestra de 1 µg de ARN, el cual se desnaturalizó previamente durante un paso de incubación inicial a 70ºC durante 5 minutos junto con 20 pmol del cebador reverse 5`-ACCCGATGTTTTACGCCATACCACAGTA-3`. Este último oligonucleótido está dirigido contra la región 3`-UTR del genoma viral quimérico. La mezcla una vez completada con buffer de reacción 5X, $MgCl_2$ 8 mM, mezcla de dNTPs a una concentración final de 0,5 mM cada uno, 20 U/µl de RNaseOUT y 10 U/µl de transcriptasa reversa; se incubó a 25ºC durante 5 min, seguido por una etapa de síntesis de una hora a 52ºC. Dos microlitros del ADNc recién sintetizado se utilizaron en reacciones de PCR para amplificar los genes *nef, pc* y *rdrp*; según como lo indican los cebadores y los perfiles térmicos detallados en el **CUADRO 4**.

RESULTADOS

Los ensayos de amplificación por PCR del gen *nef* del VIH-I utilizando cebadores específicos que presentaban las secuencias de restricción reconocidas por las ERs *Pac* I y *Xho* I, permitieron visualizar mediante electroforesis en gel de agarosa una banda de aproximadamente 700 pb (**FIGURA 4**). Así mismo, se puede observar un amplificado inespecífico y de muy bajo rendimiento de aproximadamente 1.500 pb, el cual se produce como consecuencia del alineamiento del cebador reverse con la secuencia de nucleótidos 123-157 de la estructura del vector pET21d que codifica para la secuencia de la hexahistidina (CAC^6). Aun así, se considera que estos cebadores muestran buenos resultados en la amplificación específica del gen *nef*.

Los experimentos de digestión de este gen con las ERs *Xho*I y *Kpn*I previo al ensayo de ligación causaron su fragmentación. En ambos casos se observaron dos fragmentos, para la digestión con *Xho*I las bandas eran de aproximadamente 133 y 563 pb, mientras que para *Kpn*I los productos observados tenían tamaños aproximados de 250 y 446 pb (**FIGURA 5**). Por otro lado, las digestiones separadas del vector p30B con las ERs *Kpn*I o *Pac*I permitieron

CUADRO 4. Cebadores y perfiles térmicos utilizados para amplificar por PCR los genes *nef*, *pc* y *rdrp*, luego de la reacción de transcripción reversa.

CEBADOR	SECUENCIA*	D	A	E
F*nef*	GTCTCATTAATTAAATGGGTGGCAAGTGGTCAAAA	94 ºC/1`	56ºC/ 1`	72ºC/1`
R*nef*	GACCATCTCGAGTCAGTGGTGGTGGTGGTGGTG			
F*pc*	CCACTTAAATCGAAGGGTTGTGTC	94 ºC/1`	51ºC/ 1`	72ºC/1`
R*pc*	GCCCTTATAGCTACAGTAGCATCGTCTACCCTC			
F*rdrp*	TGTTTTGGTCGCATTGTC	94 ºC/1`	49ºC/ 1`	72ºC/1`30
R*rdrp*	CGGAAACTCACAACCCTT			

* Las secuencias de los cebadores están escritas en sentido 5'→3'; todas las reacciones fueron expuestas a una etapa de desnaturalización inicial a 94ºC durante 5' y una extensión final a 72 ºC durante 5' para los genes *nef* y *pc*, y de 7' para el gen *rdrp*; etapas de la amplificación por PCR D: desnaturalización, A: anillamiento y E: extensión.

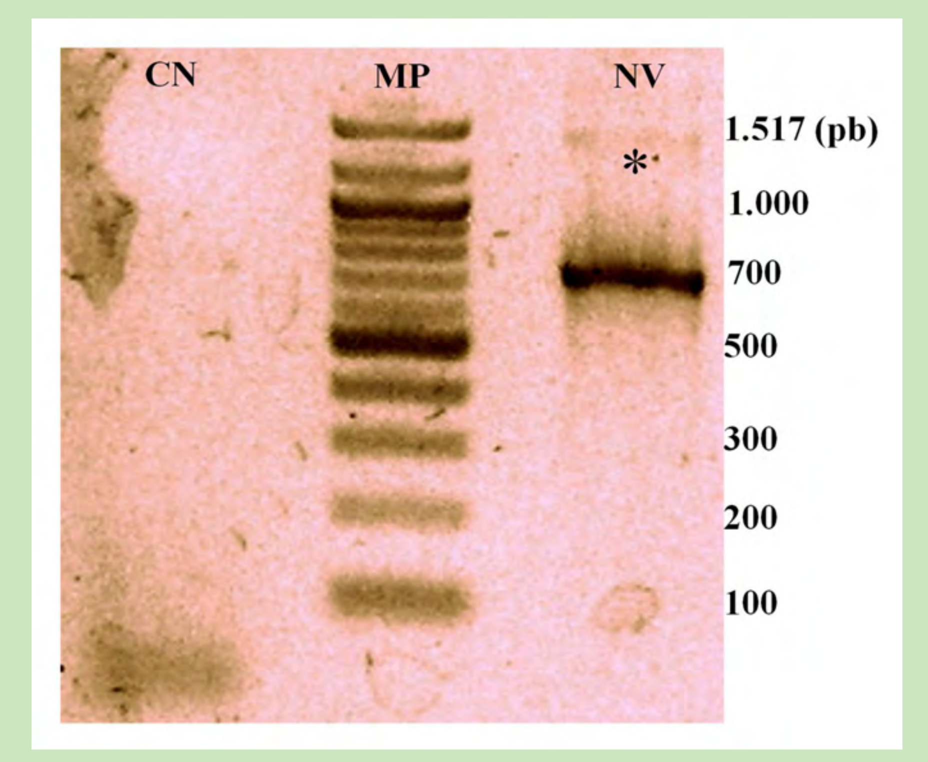


FIGURA 4. Producto de la amplificación por PCR del gen *nef* a partir del vector de clonación pETNef. **NV**: gen *nef* del VIH-1, **CN**: control negativo, **MP**: Marcador de peso molecular, 100 bp DNA Ladder (New England Biolabs), *amplificado inespecífico.

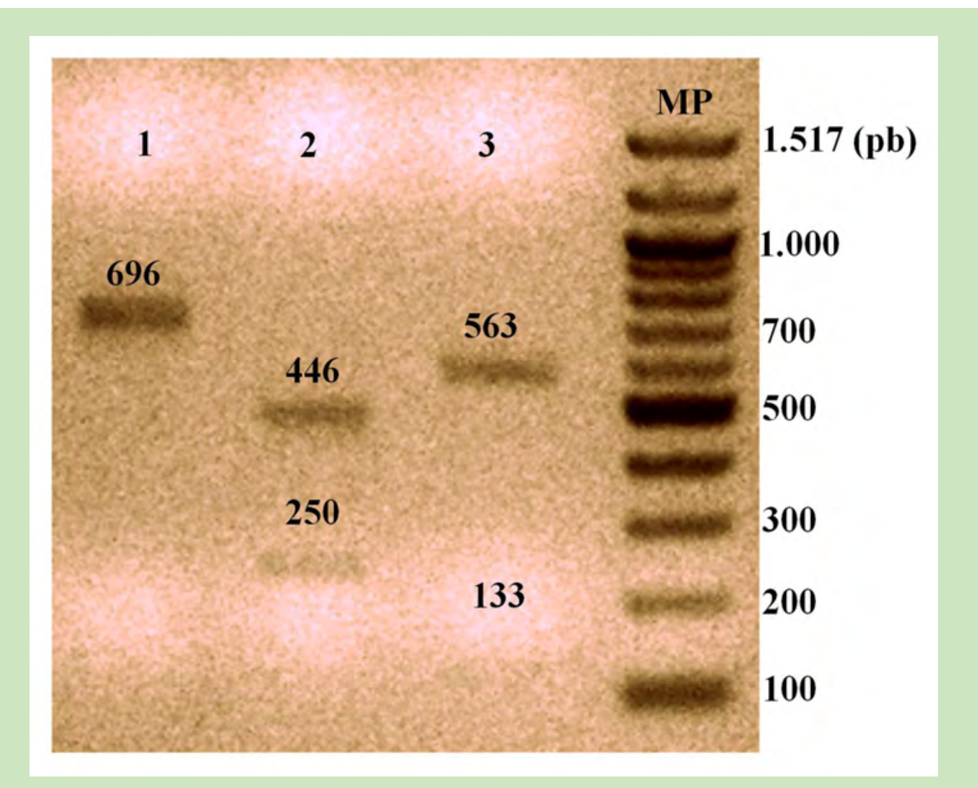


FIGURA 5. Productos de la digestión del gen *nef* tratado con las ERs *Kpn*I y *Xho*I.**1**: amplicón *nef* sin digerir, **2**: amplicón *nef* digerido con la ER *Kpn*I, **3**: amplicón *nef* digerido con la ER *Xho*I, **MP**: Marcador de peso molecular, 100 bp DNA Ladder (New England Biolabs).

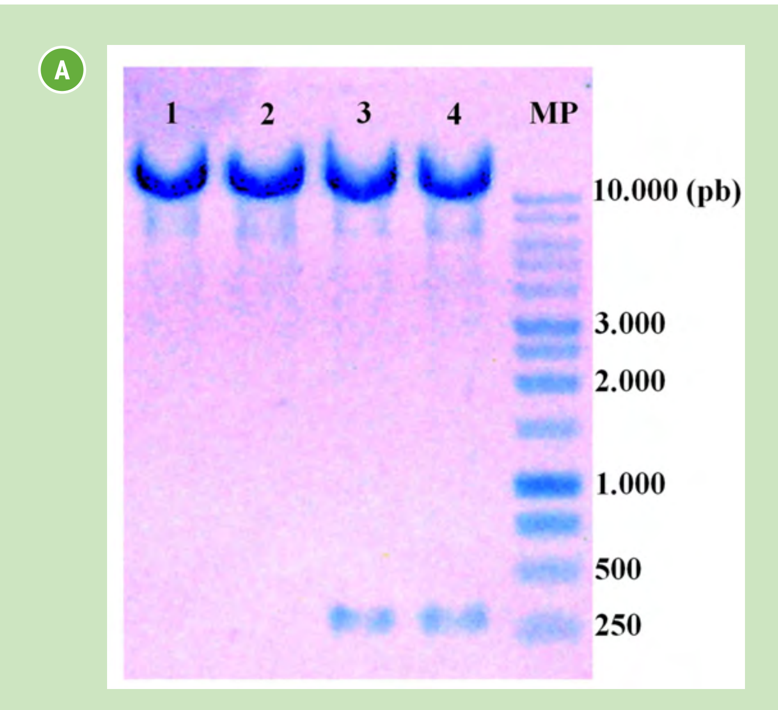
visualizar la forma linearizada del plásmido, mientras que su digestión con *Xho*I determinó la aparición de un fragmento de aproximadamente 300 pb *(FIGURA 6A)* y de dos fragmentos de 300 y 400 pb aproximadamente cuando el vector era digerido utilizando las ERs *Pac*I y *Xho*I simultáneamente *(FIGURA 6B)*.

Los amplicones parciales del gen *nef* portadores de las mutaciones para los sitios *Xho*I y *Kpn*I se desarrollaron a través de amplificaciones por PCR a partir de las combinaciones de cebadores FS/RM para los fragmentos pequeños y FM/RS para los fragmentos grandes *(CUADRO 2)*. Los productos de la amplificación por PCR con la mutación *Xho*I se obtuvieron a partir de la secuencia del gen *nef* silvestre clonado en el vector pETNef. Los fragmentos presentaron tamaños aproximados de 133 pb el pequeño y 563 pb el grande *(FIGURA 7)*. Por consiguiente, los amplificados con la mutación *Kpn*I se desarrollaron a partir del gen *nef*-mutante *Xho*I, una vez que se validó la mutación a través de ensayos de digestión con la ER *Xho*I (datos no mostrados). Los fragmentos mutados para el sitio *Kpn*I mostraron tamaños de 250 pb el pequeño y 446 pb el grande aproximadamente *(FIGURA 8)*. Estos resultados se corresponden con los datos obtenidos en los ensayos de digestión del gen *nef* silvestre realizados previamente *(FIGURA 5)*.

La reamplificación del gen mutante llevando las sustituciones puntuales, se realizó a partir de estos últimos dos fragmentos en combinación con los primers FS y RS *(FIGURA 3)*. Los productos de la extensión solapada presentaron tamaños de 700 pb aproximadamente, lo que concuerda con el tamaño del gen silvestre amplificado a partir del vector pETNef. Los amplicones doble mutantes sometidos a digestión durante 16 h con las ERs *Xho*I y *Kpn*I permitieron observar bandas intactas; es decir, del mismo tamaño del gen *nef* silvestre sin digerir *(FIGURA 9)*. No obstante, la digestión del gen silvestre ocurrió de manera parcial o total cuando fue expuesto a estas ERs durante 1 hora ó 16 horas, respectivamente.

Los amplicones mutantes de tamaño esperado que se ligaron al vector de expresión viral p30B por los sitios *Pac*I-*Xho*I, fueron secuenciados para confirmar los resultados observados en los ensayos de digestión. Los datos de los electroferogramas y de los alineamientos de

A



B

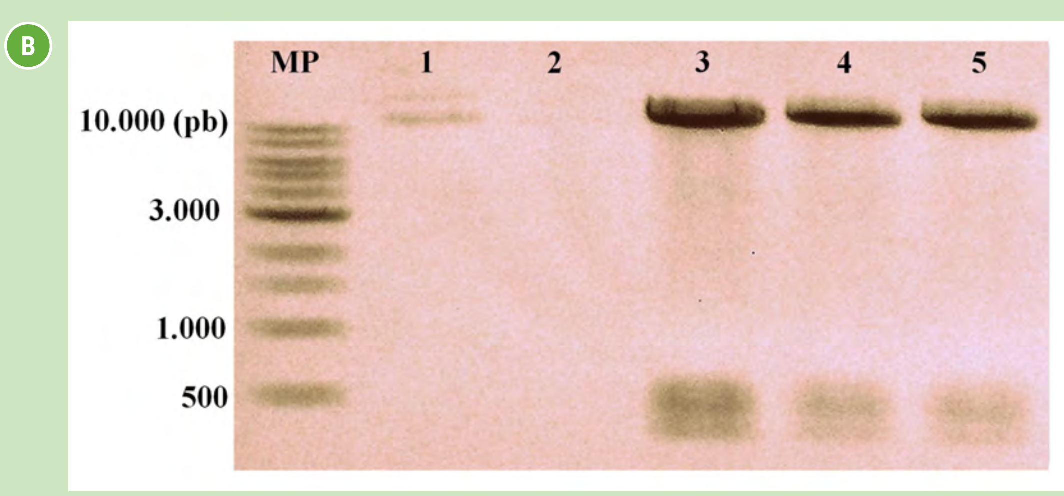


FIGURA 6. Productos de la digestión del vector p30B tratado con las ERs *Pac*I, *Kpn*I y *Xho*I. [A]: **1** vector digerido con la ER *Kpn*I, **2** vector digerido con la ER *Pac*I, **3** vector digerido con la ER *Xho*I (Promega), **4** vector digerido con la ER *Xho*I (New England Biolabs), **MP** marcador de peso molecular, 1 kb DNA Ladder (Promega). [B]: **1** vector sin digerir, **2** pozo vacío, **3**, **4** y **5** vector aislado a partir de tres clones diferentes y digeridos simultáneamente con las ERs *Pac*I y *Xho*I, **MP** marcador de peso molecular, 1 kb DNA Ladder (New England Biolabs).

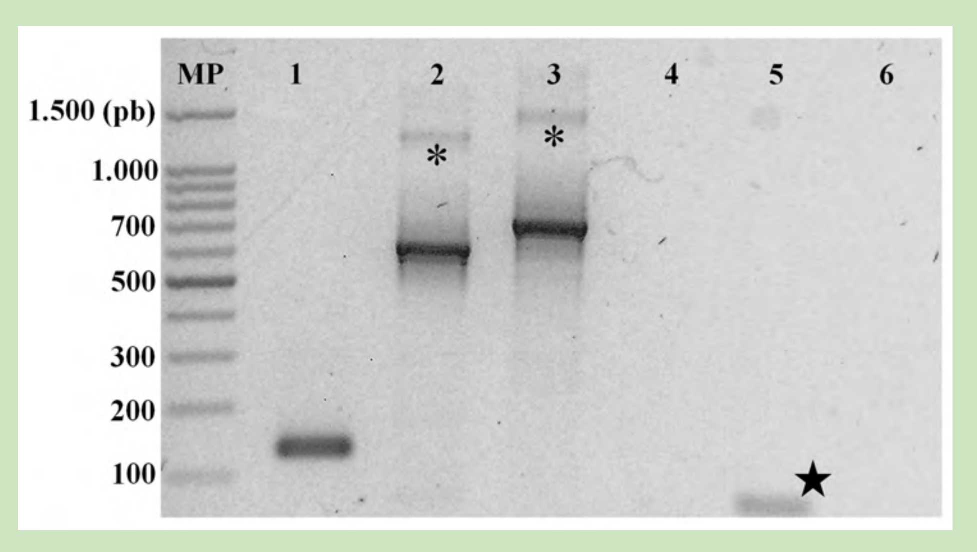


FIGURA 7. Productos de la PCR mostrando los amplificados parciales y completo del gen *nef* obtenidos a partir del vector de clonación pETnef. **1, 2**: fragmentos pequeño y grande del gen *nef*, respectivamente, portando el sitio de restricción mutante para la ER *XhoI*, **3**: gen *nef* completo (control positivo), **4, 5, 6**: controles negativos de la reacciónes 1, 2 y 3, respectivamente, **MP**: Marcador de peso molecular de 100 bp DNA Ladder (Promega), *amplificado inespecífico, con una estrella se simboliza un dímero de cebadores observado en la reacción 5.

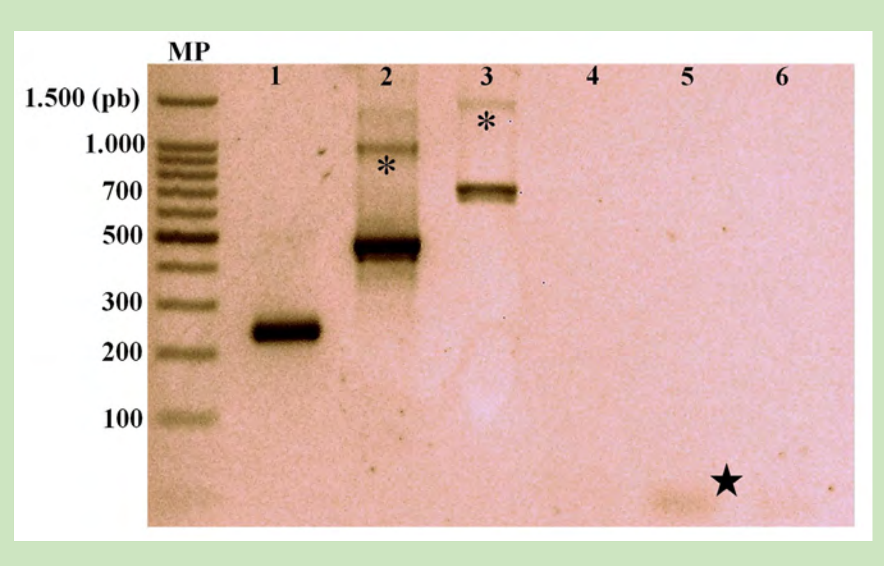


FIGURA 8. Productos de la PCR mostrando los amplificados parciales y completo del gen *nef* obtenidos a partir del gen *nef* mutante para el sitio *Xho* I. **1, 2**: fragmentos pequeño y grande del gen *nef*, respectivamente, portando el sitio de restricción mutante para la ER *Kpn* I, **3**: gen *nef* completo (control positivo), **4, 5, 6**: controles negativos de la reacciones 1, 2 y 3, respectivamente, **MP**: Marcador de peso molecular de 100 bp DNA Ladder (Promega), *amplificado inespecífico, con una estrella se simboliza un dímero de cebadores observado en la reacción 5.

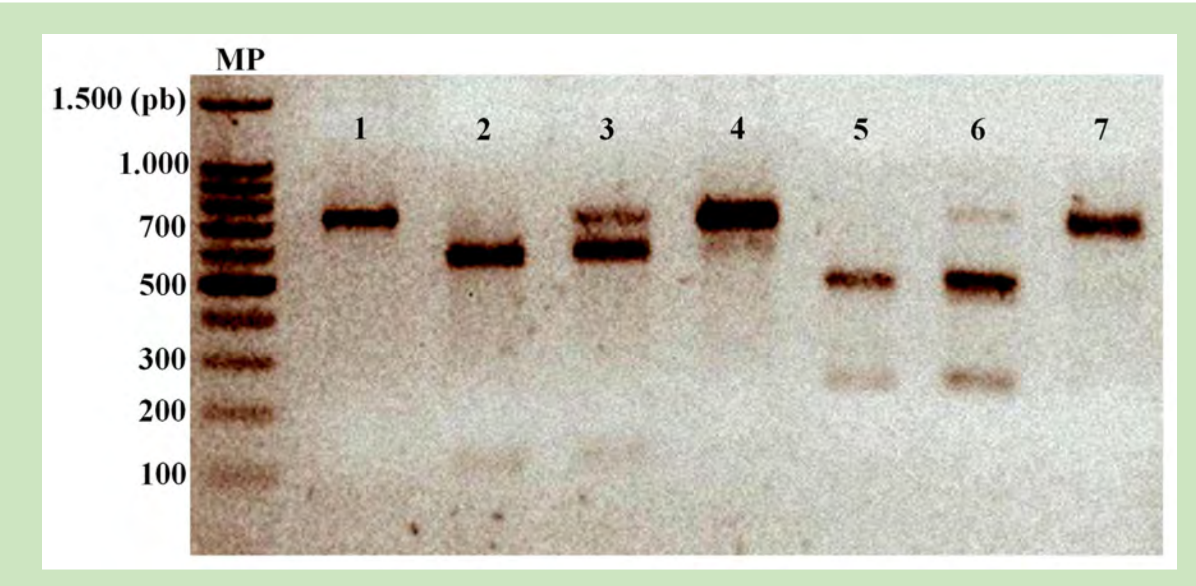


FIGURA 9. Productos de las digestiones del amplicón del gen *nef* tratado con las ERs *Kpn*I y *Xho*I.**1** gen *nef* silvestre sin digerir, **2** gen *nef* silvestre digerido con la ER *Xho*I luego de 16 h, **3** gen *nef* silvestre digerido con la ER *Xho*I luego de 1 h, **4** gen *nef* doble mutante digerido con la ER *Xho*I luego de 16 horas, **5** gen *nef* silvestre digerido con la ER *Kpn*I luego de 16 h, **6** gen *nef* silvestre digerido con la ER *Kpn*I luego de 1 h, **7** gen *nef* doble mutante digerido con la ER *Kpn*I luego de 16 horas, **MP** Marcador de peso, 100 bp DNA Ladder (Promega).

las secuencias obtenidas en este estudio con la secuencia control del gen silvestre clonado en el vector pETNef y secuencias de aislados virales obtenidas en el Banco de Genes (números de accesiones U44455.1, EU432535.1, FJ659461.1, AY167123.1, KJ925006.1), permitieron confirmar las sustituciones puntuales introducidas ***(FIGURAS 10 y 11)***. Estos resultados dejan en evidencia la utilidad que, a pesar de lo laborioso, tiene el método de extensión solapada por PCR para solventar este tipo de situaciones, en la cual los procesos de ligación y linearización del plásmido recombinante estaban afectados por la presencia de los sitios de restricción de las ERs *Xho*I y *Kpn*I.

Los ensayos de inoculación mecánica con el ARN viral quimérico producido a partir de la reacción de transcripción "*in vitro*" permitió infectar eficientemente plantas de *N. benthamiana* luego de un período de 28 días post-inoculación; Sin embargo, no fue sino hasta alcanzados los 60 días de incubación cuando las plantas tratadas lograron desarrollar síntomas más evidentes y característicos de infecciones virales, tal como se reflejan en la ***FIGURA 12***.

La extracción de ARN total a partir de las plantas inoculadas con los transcriptos virales permitió obtener ARN total de alta calidad; es decir, no degradado y de tamaño esperado ***(FIGURA 13)***. Los datos de concentración de ARN obtenidos oscilaron entre 2.360 µg/ml y 340 µg/ml;

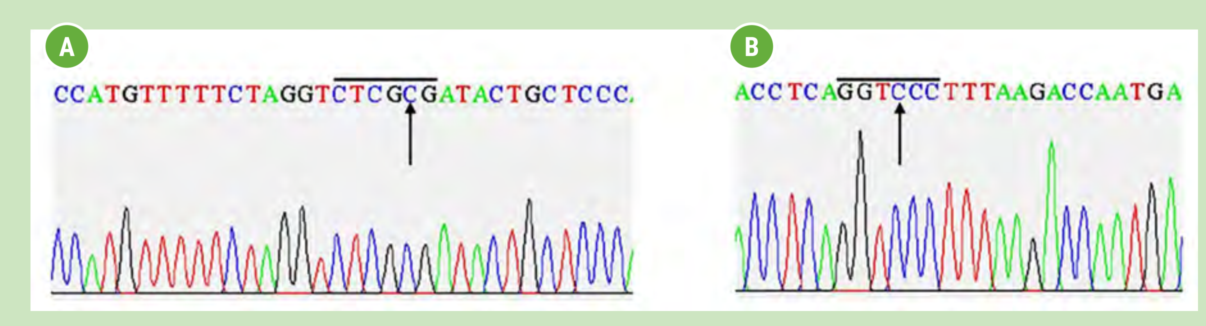


FIGURA 10. Electroferogramas mostrando las mutaciones puntuales que alteraron los sitios de restricción reconocidos por las ERs *Xho*I **[A]** y *Kpn*I **[B]**. En **[A]** se muestra parte de la secuencia reversa complementaria y en **[B]** de la secuencia directa.

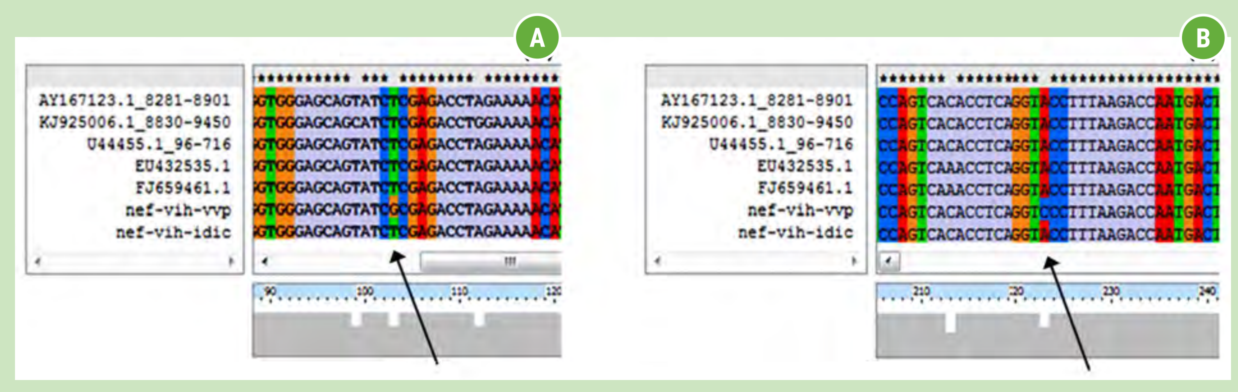


FIGURA 11. Alineamiento de las secuencias amplificadas de genes *nef* silvestre (Nef-IDIC), *nef* mutante (presente en el Vector de Virus de Planta, Nef-VVP) y de secuencias de aislados virales depositadas en el Banco de Genes. Se señalan con flechas los sitios mutagenizados reconocidos por las endonucleasas *Xho* I **[A]** y *Kpn* I **[B]**.

mientras que las relaciones entre las lecturas a 260 nm y 280 nm (A_{260}:A_{280}) reflejaron medidas que se encontraron entre 1,357 y 2,429.

Las pruebas de RT-PCR utilizando el ARN total extraído a partir de plantas inoculadas con los transcriptos "*in vitro*", permitieron confirmar la presencia de los genes *nef*, *pc* y *rdrp* en un número representativo de plantas evaluadas. Aun cuando el rendimiento del producto de la amplificación varió entre los genes estudiados para aquellas muestras que se analizaron a través de ensayos de RT-PCR, los resultados se mantuvieron consistentes en dos ensayos realizados independientemente ***(FIGURA 14)***. Estos análisis permitieron obtener productos de la amplificación por PCR conforme a los tamaños esperados para cada uno de los genes evaluados. En el caso de los amplicones para *nef* y *pc* los productos obtenidos se encuentran alrededor de los 700 pb, mientras que el producto de la amplificación para el gen *rdrp* alcanzó los 450 pb aproximadamente; este

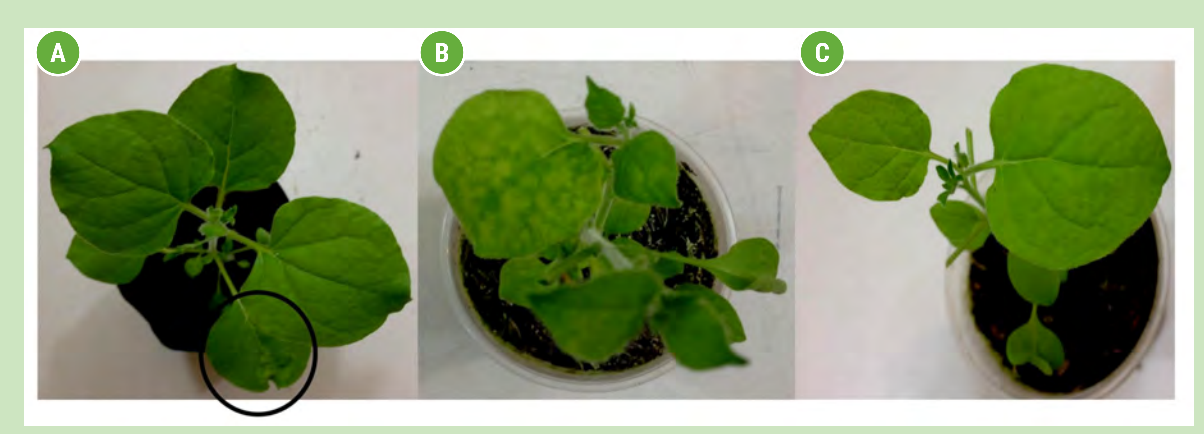


FIGURA 12. Plantas de *N. benthamina* inoculadas con transcriptos "*in vitro*" del vector p30B modificado, luego de un período de incubación de 60 días post-inoculación. Nótese el desarrollo de una ligera distorsión de la lámina foliar, ampollas [A] y moteado [B], planta sana [C].

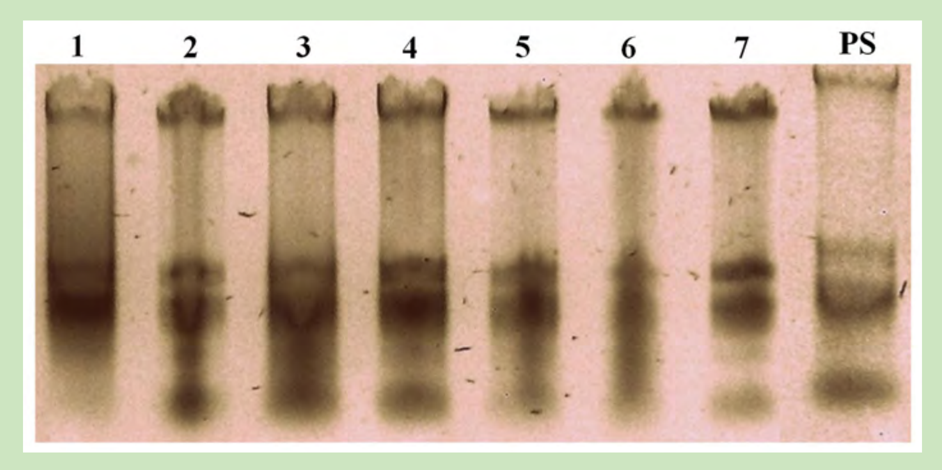


FIGURA 13. Productos de la extracción de ARN total a partir de plantas inoculadas con transcriptos virales del vector p30B modificado obtenidos "*in vitro*". **Pozos 1-7:** plantas inoculadas, **PS:** planta sana (control negativo).

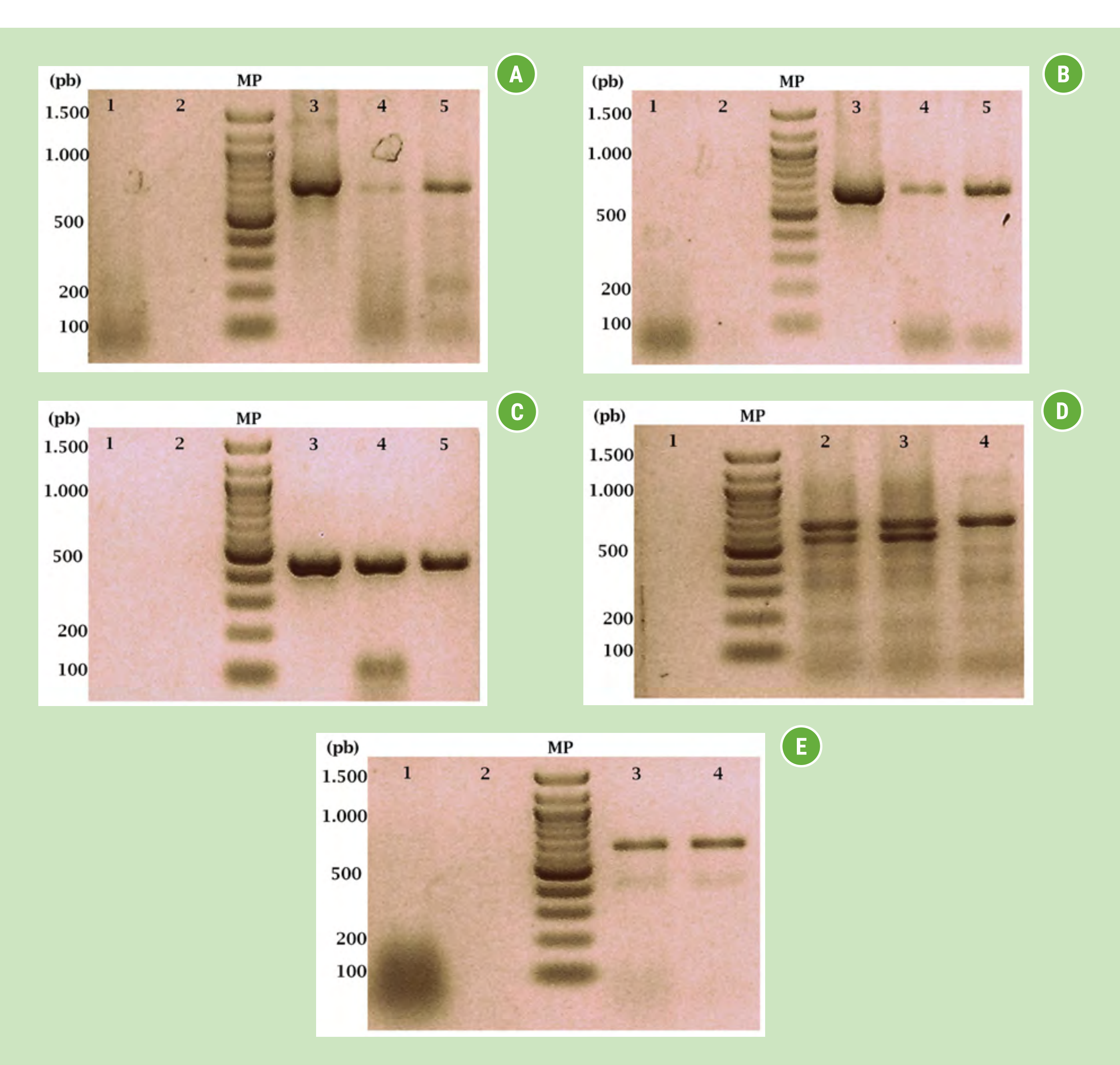


FIGURA 14. Productos de la amplificación por RT-PCR de los genes *nef*, *pc* y *rdrp* a partir de ARN total extraído de plantas inoculadas con transcriptos "*in vitro*". Se muestran los amplicones con tamaños esperados para los genes *nef* del VIH-1 [A], *pc* del TMGMV [B] y *rdrp* del TMV [C]. El gen de la β-actina se utilizó como control de la integridad y amplificabilidad del ARN [D], y como control de la RT-PCR se empleó el gen de la proteína de cápside del virus de la mancha anillada de la lechosa *pc*-PRSV [E]. En **A**, **B** y **C** **1**: RT-PCR a partir de planta sana, **2**: control negativo de PCR, **3**: control positivo de PCR, **4**, **5**: RT-PCR de plantas inoculadas y evaluadas para los genes respectivos, **MP**: Marcador de peso molecular, 100 bp DNA Ladder (New England Biolabs). En **D** **1**: control negativo de PCR, **2**: RT-PCR a partir de planta sana, **3**, **4**: RT-PCR de plantas inoculadas. En **E** **1**: RT-PCR a partir de ARN total de planta sana, **2**: control negativo de PCR, **3**: control positivo de PCR a partir de ADN plasmídico donde se encuentra clonado el gen *pc*-PRSV, **4**: RT-PCR a partir de planta inoculada.

último producto se corresponde con el tamaño esperado para el extremo 5`terminal de la replicasa viral del TMV.

DISCUSIÓN

El tamaño del amplificado del gen *nef* obtenido por PCR concuerda con el reportado por Michael *et al.*, (1995); van Marle *et al.*, (2004) y Parreira *et al.*, (2005); pero presenta una gran variación con el tamaño de los fragmentos obtenidos por Ratner *et al.*, (1996) y Rangel *et al.*, (2009), quienes consiguieron amplificados de 900 y 919 pb, respectivamente. Esta diferencia pudiera estar relacionada con el tamaño de la secuencia codificante del gen *nef*, el cual determina la síntesis de una proteína cuyo tamaño oscila entre los 25 y 35 kDa (Geyer y Peterlin, 2001; Marusic *et al.*, 2007); o más probablemente, puede estar asociada con la amplificación conjunta del gen *nef* y de un fragmento de la región regulatoria 3` del genoma del VIH (Ratner *et al.*, 1996; Rangel *et al.*, 2009).

Los resultados alcanzados en la presente investigación permitieron evidenciar la introducción de mutaciones sitio-dirigidas en el interior de un gen que tiene un papel importante en la regulación, replicación, patogenia y progresión de las enfermedades desencadenadas por el VIH-1 (Shugars *et al.* 1993; Cammack 1995; Geyer & Peterlin 2001; Marusic *et al.* 2009; Salmen *et al.* 2010). Específicamente, las sustituciones se introdujeron en el nucleótido 103 para el sitio de restricción de la enzima *Xho*I y 223 para el sitio de la enzima *Kpn*I. Bajo el concepto del sistema de clonación/expresión detallado en el presente estudio, los resultados de las digestiones del amplicón del gen *nef* con las enzimas *Xho*I y *Kpn*I representan un obstáculo tanto en el proceso de ligación como en los procesos de transcripción *in vitro* y, potencialmente, de su traducción. La digestión con la ER *Xho*I puede producir plásmidos recombinantes portando no sólo el gen *nef* completo sino también truncado, mientras que la digestión con *Kpn*I, la cual es la enzima utilizada obligatoriamente para linearizar el plásmido en este sistema, también fragmentaría el gen de interés favoreciendo la aparición de transcritos incompletos *(ver FIGURA 2)*. Estos resultados concuerdan con lo planteado por Shivprasad *et al.* (1999), quienes explicaron que la adición de un sitio *Xho*I dentro del gen *gfp* permite escindirlo en uno o dos fragmentos según el orden en que se utilicen las ERs. No obstante, este sistema tal como está planteado interfiere con el cloneo de genes de interés que porten la secuencia de restricción para *Xho*I, como ocurrió en el presente trabajo.

Estos resultados en conjunto dejan en evidencia la utilidad que tiene el método de extensión solapada por PCR para solucionar problemas asociados con la presencia de sitios de restricción en regiones de un inserto o de un vector, distintas a las destinadas para su ligación. Sin embargo, la introducción de mutaciones sitio-dirigidas mediada por PCR ha tenido mayor aplicabilidad en los estudios de caracterización de dominios funcionales específicos en polipéptidos de interés médico-científico. Por ejemplo, investigaciones acerca de mutantes sitio dirigidos de Nef en el motivo ($K^{92}EK$), revelaron que este dominio efector es necesario para inducir la producción y liberación de las chemokinas MIP-1α y MIP-1β en macrófagos infectados (Dai y Steveson, 2010). Así mismo Aqil *et al.* (2013), lograron determinar a partir de ensayos de mutagénesis del motivo $GW_{(12,13/140,141)}$ de Nef, el papel que desempeñan estos residuos de aminoácidos en la supresión del silenciamiento viral mediado por el complejo Ago2-RISC; y el efecto que desencadenan estas alteraciones sobre la carga viral y la infectividad ocasionada por el VIH-1. Otros trabajos en los cuales se ha empleado la estrategia de mutagénesis sitio–dirigida, son el estudio de la actividad fibrinolítica de una serín proteasa extraída de glándulas salivales de una serpiente marina (*Lapemis hardwickii*), la cual ha mostrado amplio espectro de aplicación en medicina, pero bajo rendimiento en sistemas eucarióticos (levaduras). Los resultados de este trabajo revelaron que la enzima doble mutante (N111R/R230G) alcanzó altos niveles de expresión en *Pischia pastoris* y una actividad anti–trombótica e hipotensora aumentada en ratas hipertensas espontáneas (Li *et al.*, 2017). Así mismo, se han reportado ensayos de producción de la enzima dealquilasa humana cuyo producto se encarga de reparar daños en el ADN ocasionados por agentes alquilantes (Silvestrov *et al.* 2014); la expresión de la proteína B mutante la cual se une a la transferrina porcina para inducir respuesta inmune contra *Haemophilus parasuis* (Frandoloso *et al.* 2015); o la estandarización de la estrategia de mutagénesis sitio-dirigida por PCR con el método de QuikChangeTM (Agilent Technologies La Jolla, CA, USA), en la que se emplean cebadores individuales en reacciones separadas para amplificar cada una de las hebras de la secuencia de interés.

No obstante, estos datos contrastan lo reportado inicialmente por Ho *et al.* (1989), quienes postularon que la principal limitante de la SDM radica en la incapacidad que tiene el método para provocar alteraciones en el interior de la secuencia blanco. Este grupo afirmó que los cambios sólo son posibles siempre y cuando los cebadores mutagénicos estén dirigidos hacia los extremos del ADN clonado. Por lo tanto, con la estrategia desarrollada en el presente trabajo quedó demostrado el alcance que puede tener este método cuando se planifica una estrategia experimental adecuada.

El desarrollo evidente de síntomas en plantas de *N. benthamiana* inoculadas con ARN viral quimérico del vector p30B modificado, fue posible luego de un período de incubación de 60 días posteriores a su inoculación. No obstante, diversos ensayos donde se han utilizado éste u otros vectores virales similares para expresar proteínas de interés médico, señalan que la aparición de síntomas ocurre en un plazo no mayor a catorce días luego de inoculadas las plantas (Yusibov *et al.* 1997; Marusic *et al.* 2001; Donini *et al.* 2005; Meyers *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2012; Alkanaimsh *et al.* 2016). Este retraso observado en la aparición de síntomas probablemente está influenciado por las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrollaron las plantas inoculadas; ya que, a pesar de haberse controlado y ajustado parámetros climáticos como fotoperíodo de 16:8 horas luz: oscuridad y termoperíodo (26±2ºC), el material tratado no alcanz**ó** ni la altura ni el diámetro de la lámina foliar suficiente como para manifestar un desarrollo de síntomas perceptibles, aún a los catorce días de su

inoculación. Dentro de los síntomas predominantes desarrollados por las plantas se encuentran ampollas, distorsión de la lámina foliar y moteado; indicios de infección aparentemente virales de amplia ocurrencia en Tobamovirus (Solis & García-Arenal 1990; Rodríguez *et al*. 2004; Ortega *et al*. 2007); sin embargo, otros síntomas tales como clorosis y moteado se presentaron en un número más limitado de plantas y en éste último caso luego de un período de incubación de 60 días. Independientemente del tipo y la magnitud de los síntomas desarrollados por el material utilizado en el presente estudio, estos resultados concuerdan con los reportados por otros investigadores que han empleado el sistema de expresión de péptidos heterólogos basado en la familia de vectores virales 30B (Shivprasad *et al*. 1999; Ryabov *et al*. 1999; Kohl *et al*. 2006; Kagale *et al*. 2012; Mascia *et al*. 2014). En este sentido, se debe señalar que el genoma de los vectores de virus de plantas se han manipulado adecuadamente; de forma tal que se favorezca el desarrollo de síntomas de infección sistémica tipo mosaico, moteado y menos frecuentemente clorosis; en contraposición a la aparición de manifestaciones que impliquen respuesta hipersensible, reducción de la lámina foliar o pérdida total de la misma. Éstas últimas premisas tienen una noción bastante lógica, ya que estos vectores se emplean en estrategias cuyo propósito es expresar péptidos heterólogos que se producen, modifican, compartimentalizan y almacenan en tejidos vegetales. Por otra parte, la aparición tardía de síntomas característicos de infecciones ocasionadas por virus luego de un período de incubación de 60 días resulta un parámetro impráctico para un sistema de producción que tiene como propósito producir a gran escala proteínas recombinantes en un período corto de tiempo.

Los resultados de los ensayos de RT-PCR realizados a partir de plantas inoculadas con ARN viral quimérico desarrollado "*in vitro*", permitieron amplificar y evidenciar que 7 de las 21 plantas tratadas resultaron positivas para los genes codificantes de la proteína auxiliar Nef del VIH-1, la proteína de cápside del TMGMV y la proteína de replicación viral del TMV. No obstante, la intensidad de la señal para los genes *pc* y *rdrp* fue mucho mayor que la obtenida para el gen *nef*. Estos resultados sugieren que de alguna manera el virus quimérico ejerce algún tipo de presión para multiplicar diferencialmente su genoma y favorece la replicación de aquellos genes que son determinantes para su biología. En este sentido, Lombardi *et al*. (2009) demostraron que los bajos niveles de expresión de Nef en plantas de *N. benthamina* agroinfiltradas, están modulados por un mecanismo de silenciamiento dirigido por pequeños ARN interferentes específicos de Nef producidos por la planta. Esta estrategia de silenciamiento génico post-transcripcional forma parte de la respuesta innata que han desarrollado las plantas como defensa contra ácidos nucleicos invasivos de transgenes, transposones y transcriptos virales (Jovel & Ramírez 2002; Baulcombe 2004; Flores *et al*. 2005; Alvarado & Scholthof 2009).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede señalar que la estrategia metodológica diseñada y ejecutada, permitió construir un vector de virus de planta constituido por genes provenientes de los virus del mosaico del tabaco (TMV), del mosaico verde suave del tabaco (TMGMV) y de inmunodeficiencia humana (HIV). El desarrollo de esta quimera viral fue posible gracias al método de mutagénesis sitio-dirigida, el cual permitió solventar el problema relacionado con la presencia de los sitios de restricción que estaban afectando los procedimientos de ligación del gen *nef* con el vector p30B, la linearización del vector una vez modificado y la transcripción "*in vitro*" del vector linearizado. Finalmente, esta quimera se considera una herramienta biotecnológica que puede ser empleada en la producción de una vacuna potencial dirigida a contrarrestar las primeras etapas de la infección por HIV-1.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado parcialmente por el FONACIT (proyecto PEI Nº 2102001279).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alkanaimsh S., Karuppanan K., Guerrero A., Tu A., Hashimoto B., Hwang M., Phu M., Arzola L., Lebrilla C., Dandekar A., Falk B., Nandi S., Rodríguez R., McDonald K. 2016. Transient expression of tetrameric recombinant human butyrylcholinesterase in *Nicotiana benthamiana*. *Frontiers in Plant Science* doi:10.3389/fpls.2016.00743.

Alvarado V., Scholthof H. 2009. Plant responses against invasive nucleic acids: RNA silencing and its suppressions by plant viral pathogens. *NIH Public Access* 20(9):1032-1040.

Aqil Madeeha., Naqvi A., Bano A., Jameel S. 2013. The HIV-1 Nef protein Argonaute-2 and functions as a viral suppressor of RNA interference. *PLoS ONE* 8(9): e74472. doi:10.1371/journal.pone.0074472.

Avesani L., Marconi G., Morandini F., Albertini E., Bruschetta M., Bortesi L., Pezzoti M., Porceddu A. 2007. Stability of Potato vírus X expression vectors is related to insert size: implications for replication models and risk assessment. *Transgenic Res*. 16:587-597.

Azad A., Failla P., Lucantoni A., Bentley J., Mardon C., Wolfe A., Fuller K., Hewish D., Macreadie I. 1994. Large-scale production and characterization of recombinant human immunodefiency virus type 1 Nef. *J. Gen. Virol*. 75:651-655.

Baulcombe, D. 2004. RNA silencing in plants. *Nature* 431(16):356-363.

Barbante A., Irons S., Hawes C., Frigerio L., Vitale A., Pedrazzini E. 2008. Anchorage to the cytosolic face of the ER membrane: anew strategy to stabilize a cytosolic recombinant antigen in plant. *Plant Biotechnol. J.* 6:560-575.

Cammack N. 1995. HIV-nef: Is it a therapeutic target? *Publicación Oficial de la Sociedad Española Interdisciplinaria del SIDA* 6:160.

Carter J., Saunders V. 2007. Virology: Principles and Applications. UK, John Wiley & Sons Ltd. 383 p.

Carter P. 1986. Site-directed mutagenesis. *Biochemical Journal* 237:1-7.

Chung C., Niemela S., Miller R. 1989. One-step preparation of competent *Escherichia coli*: transformation and storage of bacterial cells in the same solution. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 86:2172-2175.

Craik C. 1985. Use of oligonucleotides for site-specific mutagenesis. *BioTechniques* 3:12-19.

Dai L., Stevenson M. 2010. A novel motif in HIV-1 Nef that regulates MIP-β1 chemokine release in macrophages. *Journal of Virology* 84(16):8327-8331.

Deacon N., Tsykin A., Solomon A., Smith K., Ludord-Menting M., Hooker D., McPhee D., Greenway A., Ellett A., Chatfield C., Lawson V., Crowe S., Maerz A., Sonza S., Learmont J., Sullivan J., Cunningham A., Dwyer D., Dowton D., Mills J. 1995. Genomic structure of an attenuated quais-species of HIV-1 from a blood transfusión donor and recipients. *Science* 270:988-991.

de Virgilio M., De Marchis F., Bellucci M., Mainieri D., Rossi M., Benvenuto E., Arcioni S., Vitale A. 2008. The human immunodeficiency virus antigen Nef forms protein bodies in leaves of transgenic tobacco when fused to zeolin. *Journal of Experimental Botany* 59(10):2815-2829.

Donini M., Lico Ch., Baschieri S., Conti S., Magliani W., Polonelli L., Benvenuto E. 2005. Production of an engineered killer peptide in *Nicotiana benthamiana* by using a *Potato Virus X* expression system. *Applied and Environmental Microbiology* 71(10):6360-67.

Dubé M., Bego M., Paquay C., Cohen É. 2010. Modulation of HIV-1-host interaction: role of the Vpu accessory protein. *Retrovirology* 7(114):1-19.

Fauquet C. M., Mayo M. A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L. A. 2005. *Virus Taxonomy-Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, California, Elsevier Academic Press, p. 1273.

Flint S. J., Enquist L. W., Racaniello V. R., Skalka A. M. 2004. *Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control of Animal Viruses*. Second Edition. Washington DC, ASM Press, p. 918.

Flores R., Hernández C., de Alba Martínez A., Daros J., Di Serio F. 2005. Viroids and viroid-host interactions. *Annu. Rev. Phytopathol*. 43:117-139.

Frandoloso R., Martínez-Martínez S., Calmettes Ch., Fegan J., Costa E., Curran D., Yu R., Gutierrez-Martín C., Rodríguez-Ferry E. F., Moraes T., Schryvers A. 2015. Nonbinding site-directed mutants of transferrin binding protein B exhibit enhanced immunogenicity and protective capabilities. *Infection and Immunity* 83:1030-1038.

Geyer M., Peterlin B. 2001. Domain assembly accessibility and sequence conservation in full length HIV-1 Nef. *FEBS Letters* 49:91-95.

Geyer M., Munte C., Schorr J. Kellner R., Kalbitzer R. 1999. Structure of the anchor-domain of myristoylated and no-myristoylated HIV-1 Nef protein. *Journal of Molecular Biology* 289(1):123-138.

Goepfert P., Tomaras G., Horton H., Montefiori D., Ferrari G., Deers M., Voss G., Koutsoukos M., Pedneault L., Vandepapeliere P., McElrath M., Spearman P., Fuchs J., Koblin B., Blattner W., Frey S., Baden L., Harro C., Evans T. 2007. NIAID HIV vaccine trials network. Durable HIV-1 antibody and T-cell responses elicited by an adjuvanted multi-protein recombinant vaccine in uninfected human volunteers. *Vaccine* 25:510-518.

Hall L., Emery D. 1991. Rapid and efficient method for site-directed mutagenesis by PCR using biotinylated universal primers and streptavidin-coated magnetic beads. *Protein Engineering* 4:601.

Ho S., Hunt H., Horton R., Pullen J., Pease L. 1989. Site-directed mutagenesis by overlap extension using the polymerase chain reaction. *Gene* 77:51-9.

Hwang M., Lindenmuth B., McDonald K., Falk B. 2012. Bipartite and tripartite *Cucumber mosaic virus*-based vectors for producing the *Acidothermus cellulolyticus* endo-1,4-β-glucanase and other proteins in non–transgenic plants. *BioMed Central Biotechnology* doi: 10.1186/1472-6750-12-66.

Jovel J., Ramírez P. 2002. Silenciamiento de genes virales: el contraataque de las plantas frente a infecciones de virus fitopatógenos. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66:49-61.

Kagale S., Shihomi U., Wigness M., Bender T., Yang W., Borhan H., Rozwadowski K. TMV-gate vectors: Gateway compatible tobacco mosaic virus based expression vectors for functional analysis of protein. 2012. *Scientific Reports* doi:10.1038/srep00874.

Kohl T., Hitzeroth I., Stewart D., Varsani A., Govan V., Christensen A., Williamson A., Rybicki E. 2006. Plant-produced Cottontail rabbit papillomavirus L1 protein protects against tumor challenge: a proof-of-concept study. *Clinical and Viccine Immunology* 13(8):845-853.

Kohleisen B., Gaedigk-Nitschko K., Ohlmann M., Götz E., Ostolasa H., Goni F., Erfle V. 1996. Heparin-binding capacity of the HIV-1 NEF-protein allows one-step purification and biochemical characterization. *J. Virol. Methods* 60:89-101.

Li Z., Chen X., Guo S., Zhang H., Dong H., Wu G., Hong A., Gu J. 2017. Engineering of Harobin for enhanced fibrinolytic activity obtained by random and site-directed mutagenesis. *Protein Expr Purif.* 129:162-172

Lombardi R., Circelli P, Villani M., Buriani G., Coppola V., Bianco L., Benvenuto E., Donini M., Marusic C. 2009. High-level HIV-I Nef transient expression in *Nicotiana benthamiana* using the P19 gene silencing suppressor protein of Artichoke Mottled Crinckle Virus. *BioMed Central* doi:10.1186/1472-6750-9-96.

Maggiorella M., Sernicola L., Crostarosa F., Belli R., Pavone-Cossut M., Macchia I., Farcomeni S., Tenner-Racz K., Racz P., Ensoli B., Titti F. 2007. Multiprotein genetic vaccine in the SIV-Macaca animal model: a promising approach to generate sterilizing immunity to HIV infection. *J. Med. Primatol.* 36:180-194.

Malim M., Emerman M. 2008. HIV-1 accessory proteins-ensuring viral survival in a hostile environment. *Cell Host & Microbe Review* 3:388-398.

Marusic C., Rizza P., Lattanzi L., Mancini C., Spada M., Belardell, F., Benvenuto E., Capone I. 2001. Chimeric plant virus particles as immunogens for inducing murine and human immune responses against Human Immunodeficiency Virus Type 1. *Journal of Virology* 75(18):8434-9.

Marusic C., Nttal J., Buriani G., Lico Ch., Lombardi R., Baschieri S., Benvenuto E., Frigerio L. 2007. Expression, intracellular targeting and purification of HIV Nef variants in tobacco cells. *BioMed Central Biotechnology* doi: doi:10.1186/1472-6750-7-12.

Marusic C., Vitale A., Pedrazzini E., Donini M., Frigerio L., Block R., Dix Ph., McCabe M., Bellucci M., Benvenuto E. 2009. Plant-based strategies aimed at expressing HIV antigens and neutralizing antibodies at high levels. Nef as a case study. *Transgenic Research* 18:499-512.

Mascia T., Nigro F., Abdallah A., Ferrara M., De Stradis A., Faedda R., Palukaitis P., Gallitelli D. 2014. Gene silencing and gene expression in phytopathogenic fungi using a plant virus vector. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111(11):4291-4296.

Meyers A., Chakauya E., Shephrad E., Tanzer F., Maclean J., Lynch A., Williamson A., Rybicki E. 2008. Expression of HIVI antigens in plants as potential subunit vaccines. *BioMed Central Biotechnology* doi:10.1186/1472-6750-8-53.

Michael N. L., Chang G., d'Arcy L. A., Ehrenberg P. K., Mariani R., Busch M. P., Birx D. L., Schwartz D.H. 1995. Defective accessory genes in a human immunodeficiency virus type 1-infected long-term survivor lacking recoverable virus. *Journal of Virology* 69:4228-4236.

Nassal M., Rieger A. 1990. PCR-based site-directed mutagenesis using primers with mismatched 3´-ends. *Nucleic Acids Research* 18:3077-3078.

Noguera A., Fermín G. 2013. Plataformas de expresión en plantas de péptidos humanos terapéuticos: expresión transitoria y estable. *Avances en Biomedicina* 2(3):137-153.

Ortega E., Zambrano K., Carballo O., Romano M., Marys E. 2007. Caracterización de un Tobamovirus aislado de plantas de canavalia (*Canavalia ensiformis* L.) en una parcela experimental del Edo. Aragua, Venezuela. *Interciencia* 32(3):202-205.

Parreira R., Pádua E., Piedade J., Venenno T., Paixão M. T., Esteves A. 2005. Genetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 nef in Portugal: subtyping, identification of mosaic genes, and amino acid sequence variability. *Journal of Medical Virology* 77:8-16.

Rangel H. R., Garzaro D., Rodríguez A. K., Ramírez A. H., Ameli G., Gutiéreez C., Pujol F. H. 2009. Deletion insertion and stop codon mutations in *vif* genes of HIV-1 infecting slow progressor patients. *The Journal of Infection in Developing Countries* 3:531-538.

Ratner L., Joseph T., Bandres J., Ghosh S., Vander Heyden N., Templeton A., Hahn B., Powderly W., Arens M. 1996. Sequence heterogeneity of Nef transcripts in HIV-1-infected subjects at different stages of disease. *Virology* 223:245-250.

Rodríguez Y., Rangel E., Centeno F., Mendoza O, Parra A. 2004. Detección de enfermedades virales afectando al pimentón en los municipios Iribarren, Jiménez y Torres del estado Lara, Venezuela, utilizando la técnica ELISA. *Rev. Fac. Agron*. 21(2):105-115.

Roeth J., Collins K. 2006. Human immunodeficiency virus type 1 Nef: adapting to intracellular trafficking pathways. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. 70:548-563.

Ryabov E., Robinson D., Talianski M. 1999. A plant virus-encoded protein facilitates long-distance movement of heterologous viral RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:1212-1217.

Salmen S., Colmenares M., Peterson D., Reyes E., Rosales J., Berrueta L. 2010. HIV-1 Nef associates with p22-phox, a component of the NADPH oxidase protein complex. *Cellular Immunology* 263:166-171.

Salmen S., Gabaldon-Figueira J., Terán-Ángel G. 2015. Nef-VIH-1 como principal orquestador de la disfunción celular durante la inmunopatogenia de la infección por el VIH-1. *Avances en Biomedicina* 4:126-137.

Sambrook J., Russell D. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Third Edition. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.

Shivprasad S., Pogue G., Lewandowski D., Hidalgo J., Donson J., Grill L., Dawson W. 1999. Heterologous sequences greatly affect foreign gene expression in tobacco mosaic virus-based vectors. *Virology* 255:312-323.

Shugars D., Smith M., Glueck D., Nantermet P., Moiseiwitsch F., Swanstrom R. 1993. Analysis of human immunodeficiency virus type 1 nef gene sequences present in vivo. *Journal of Virology* 67:4639-4650.

Silvestrov P., Müller T., Clark K., Hausinger R., Cisneros A. 2014. Homology mode-ling, molecular dynamics, and site-directed mutagenesis study of AlkB human homo-log 1 (ALKBH1). *Journal of Molecular Graphics & Modelling* 54:123-30.

Sirén N., Weegar J., Dahlbacka J., Kalkkinen N., Fagervik K., Leisola M., vonWeymarn N. 2006. Production of recombinant HIV-1 Nef (negative factor) protein using Pichia pastoris and a low-temperature fed-batch strategy. *Biotechnol. Appl. Biochem*. 44:151-158.

Solis I., García-Arenal F. 1990. The complete nucleotide sequence of the genomic RNA of the Tobamvirus Tobacco Mild Green Mosaic Virus. *Virology* 177:553-558.

Terán-Ángel G., Montes-Berrueta D., Valencia-Molina J., Gabaldon-Figueira J., Bastidas-Azuaje M.. Peterson D., Berrueta L., Salmen S. 2016. Identification of Nef-HIV-1 domains involved in p22-phox interaction and superoxide production. *Invest. Clin.* 57(3):303-317.

Tobiume M., Takahoko M., Yamada T., Tatsumi M., Iwamoto A., Matsuda M. 2002. Inefficient enhancement of viral infectivity and CD4 downregulation by human immunodeficiency virus type 1 Nef from Japanese long-term nonprogressor. *Journal Virology* 76:5959-5965.

Vallette F., Mege E., Reiss A., Adesnik M. 1989. Construction of mutant and chimeric genes using the polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Research* 17:723-33.

Van Marle G., Henry S., Todoruk T., Sullivan A., Silva C., Rourke S. B., Holden J., McArthur J. C., Gill M. J., Power C. 2004. Human immunodeficiency virus type 1 Nef protein mediates neural cell death: a neurotoxic role for IP-10. *Virology* 329:302-318.

Weiner M., Felts K., Simcox T., Braman J. 1993. A method for the site-directed mono-and multi-mutagenesis of double-stranded DNA. *Gene* 126:35-41.

Weiner M., Costa G., Schoettlin W., Cline J., Mathur E., Bauer J. 1994. Site-directed mutagenesis of double-stranded DNA by the polymerase chain reaction. *Gene* 151:119-123.

Xia Y., Chu W., Qi Q., Xun L. 2015. New insights into the QuikChange™ process guide the use of Phusion DNA polymerase for site-directed mutagenesis. *Nucleic Acids Research* 43:e12.

Yang X., Gabuzda D. 1998. Mitogen-activated protein kinase phosphorylates and regulates the HIV-1 Vif protein. *J. Biol. Chem.* 273:29879-29887.

Yao Z., Jones D., Grose C. 1992. Site-directed mutagenesis of herpes-virus glycoprotein phosphorylation sites by recombinant polymerase chain reaction. PCR Methods Appl. 1:205-207.

Yoshino Y., Ishida M., Horii A. 2007. A new 10-min ligation method using a modified buffer system with a very low amount of T4 DNA ligase: the “Coffee Break Ligation” technique. Biotechnol Lett. 29:1557-1560.

Yusibov V., Modelska A., Steplewski K., Agadjanyan M., Weiner D., Hooper D., Koprowski H. 1997. Antigens produced in plants by infection with chimeric plant viruses immunize against rabies viruses and HIV-1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:5784-8.

Zhou F., Badillo-Corona J., Karcher D., González-Rabade N., Piepenburg K., Borchers A., Maloney A., Kavanagh T., Gray J., Bock R. 2008. Hihg-level expression of HIV antigens from the tobacco and tomato plastid genomes. *Plant Biotechnol. J.* 6:897-913.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria 41
ENERO-DICIEMBRE 2017
págs. 70—101

ANATOMÍA DE LA MADERA EN 35 ESPECIES DE LAURACEAE JUSS. DE VENEZUELA

WOOD ANATOMY IN 35 SPECIES OF LAURACEAE JUSS. FROM VENEZUELA

por

WILLIAMS J. LEÓN H.[1]

[1] Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales.
Departamento de Botánica y Ciencias Básicas. Laboratorio de Anatomía de Maderas.
wleon@ula.ve

RECIBIDO: octubre 10 de 2016 / **ACEPTADO:** junio 13 de 2017

RESUMEN

Se presenta la descripción anatómica de la madera de 35 especies de Lauraceae, pertenecientes a ocho géneros (*Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cinnamomum*, *Licaria*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Persea*, *Pleurothyrium*), que crecen en Venezuela. La preparación del material se realizó utilizando los procedimientos estándar de microtecnia xilemática. La descripción siguió lo establecido por la Asosiación Internacional de Anatomistas de la Madera. A nivel de familia, los caracteres de diagnóstico más comunes fueron la presencia de células oleíferas, fibras septadas, punteaduras intervasculares grandes y punteaduras radiovasculares diferentes a las intervasculares. Se elaboró una clave dicotómica para la separación de géneros y de especies dentro de cada género, en el caso de aquellos representados por más de una especie (*Aniba*, *Beilschmiedia*, *Nectandra*, *Ocotea*). Las especies estudiadas se pueden separar en dos grandes grupos de acuerdo a la presencia (*Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cinnamomum*) o ausencia (*Beilschmiedia*, *Licaria*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Persea*, *Pleurothyrium*) de parénquima marginal. Dentro de cada grupo se pueden establecer separaciones en función de caracteres como la presencia de fibras septadas, ancho de radios, tipo de placas de perforación, presencia de células oleíferas y, principalmente, con base a caracteres cuantitativos.

PALABRAS CLAVE: Anatomía de madera, Lauraceae, xilema secundario, placas escalariformes, fibras septadas, células oleíferas.

ABSTRACT

Wood anatomy of 35 species of Lauraceae family, growing in Venezuela is presented. Species studied belongs to eight genera (*Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cinnamomum*, *Licaria*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Persea*, *Pleurothyrium*). Wood samples were prepared using standars procedures of xylematic microtechnique. Descriptions were made according to International Association of Wood Anatomists. Diagnostic features in the family are presence of oil cells, septate fibers, large intervessel pits, vessel-ray pitting with reduced borders to apparently simple and differ to intervessel pits in size and shape. A dichotomous identification key is presented for genera and species in each genus with two or more species studied (*Aniba*, *Beilschmiedia*, *Nectandra*, *Ocotea*). Species studied can be separated in two groups according the presence (*Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cinnamomum*) or the absence (*Beilschmiedia*, *Licaria*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Persea*, *Pleurothyrium*) of marginal parenchyma. In each group, can be made separations using features like septate fibers, perforation plates, oil cells and quantitative features.

KEY WORDS: Wood anatomy, Lauraceae, secondary xylem, scalariform plates, septate fibers, oil cells.

INTRODUCCIÓN

Lauraceae es una de las siete familias del orden Laurales de acuerdo al sistema Angiosperm Phylogeny Group (APG, 2016), está constituida por 52 géneros y 2.550 especies principalmente de porte arbóreo, rara vez arbustos, y algunos representantes parásito que se ubican en el género *Cassytha* (Singh *et al.*, 2015). Se encuentra ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales, con pocos representantes en zona templada. Incluye especies de gran desarrollo e importancia económica se encuentra concentrada en dos grandes regiones geográficas: las regiones tropicales de Indo-Malasia y de América del Sur (Franco, 2012). Es fácilmente identificada por la presencia de células oleíferas en diferentes órganos de la planta, células que permiten obtener productos aromáticos de amplio uso en medicina y perfumería (Singh *et al.*, 2015). Aunque la identificación a nivel de familia no ofrece muchas dificultades, desde el punto de vista taxonómico, se caracteriza por una gran complejidad tanto a nivel genérico como de especie (Nishida, 1999). Según Hokche *et al.* (2008), el orden Laurales está representado en Venezuela por las familias Siparunaceae (catorce especies del género *Siparuna*), Hernandiaceae (cuatro especies distribuidas en los géneros *Gyrocarpus*, *Hernandia* y *Sparattanthelium*), Monimiaceae (cuatro especies del género *Mollinedia*) y Lauraceae con 16 géneros y 211 especies, de las cuales 43 son endémicas y su distribución prácticamente abarca todos los estados del país, siendo el género *Ocotea* el mejor representado con un total de 80 especies, seguido de *Endlicheria* (24 especies), *Nectandra* (23 especies) y *Persea* (20 especies) (Hokche *et al.*, 2008). Veillon (1994) señala que las Lauraceae se encuentran en todas las zonas de vida de Venezuela con la excepción de las correspondientes a bosque espinoso tropical y premontano, bosque muy seco tropical, bosque húmedo subalpino, bosque muy seco premontano, y bosque hidrófilo o manglar.

Desde el punto de vista de anatomía de maderas, se han reportado descripciones a nivel de familia (Dadswell & Record, 1936; Record & Hess, 1949; Metcalfe & Chalk, 1950; Stern, 1954; Richter, 1987; Singh *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2015). A nivel genérico se tiene descripciones para *Aniba* (Richter, 1981; León & Espinoza, 2000a; Urbinati *et al.*, 2014), *Aspidostemon* (Richter, 1990), *Beilschmiedia* (León & Espinoza, 2000b), *Cinnamomun* (Andianto *et al.*, 2015), *Licaria* (Richter, 1985), *Nectandra* (León & Espinoza, 2001; Oliveira *et al.*, 2001, Tortorelli, 2009) y *Ocotea* (León, 2000, 2001; Tortorelli, 2009). También se tienen algunos estudios comparativos que han permitido establecer caracteres de diferenciación entre *Cinnamomun*, *Litsea* y *Phoebe* (Singh *et al.*, 2015), *Anaueria* y *Beilschmiedia* (Callado & Costa, 1997), *Dahlgrenodendron* y *Beilschmiedia* (Richter & Van Wyk, 1990), *Beilschmiedia* y *Litsea* (Rancusi *et al.*, 1987).

En Venezuela se han realizado algunos trabajos donde se incluyen especies de Lauraceae y destacan los presentados por Pérez (1993), Parra (2009) y León (2014); en cada uno se incluyen seis especies de esta familia. También se tienen los trabajos con especies de los géneros *Aniba* (León & Espinoza, 2000a), *Beilschmiedia* (León & Espinoza, 2000b), *Nectandra* (León & Espinoza, 2001) y *Ocotea* (León, 2000, 2001) donde parte del material estudiado corresponde especies colectadas en Venezuela. Parra (2009) presenta un aporte importante donde describe la madera y elabora una clave de identificación para siete especies del orden Laurales, de acuerdo al sistema de Takthajan (1980) e incluye seis Lauraceae pertenecientes a *Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cinnamomum*, *Nectandra* y *Ocotea*. Tomando en consideración la complejidad taxonómica de la familia y los pocos trabajos donde se incluyan especies de diferentes géneros de la misma; la presente investigación tiene como objetivo describir la estructura de la madera de 35 especies de Lauraceae colectadas en diferentes localidades de Venezuela, pertenecientes a los géneros *Aniba* (dos especies), *Beilschmiedia* (cuatro especies), *Cinnamomum* (una especie), *Licaria* (una especie), *Nectandra* (seis especies), *Ocotea* (19 especies), *Persea* (una especie) y *Pleurothyrium* (una especie), y elaborar una clave de identificación que permita separar géneros y especies dentro de cada género para los taxa descritos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material de estudio está representado por muestras de madera de 35 especies de Lauraceae procedentes de diferentes estados de Venezuela y que pertenecen a las colecciones de la Xiloteca MERw (Laboratorio de Anatomía de Maderas de la Universidad de Los Andes, Venezuela) y MADw (Forest Products Laboratory, Estados Unidos) *(CUADRO 1)*. Por cada especie se contó con muestras de 1-4 individuos, dependiendo de la cantidad de material disponible en las xilotecas antes mencionadas. Cada muestra fue sometida a un proceso de ablandamiento en agua hirviendo (2-10 horas) para obtener secciones transversal, tangencial y radial de 25-30 µm de espesor mediante el uso de un micrótomo de deslizamiento. Las secciones obtenidas fueron sometidas a un proceso de tinción con safranina (2-4 h), deshidratación en baños sucesivos de alcohol (50 %, 10 min; 70 %, 10 min; 75 %, 10 min; 95 %, 1 h) y el respectivo aclaramiento con una mezcla alcohol-xilol (1:1; 30 min) y xilol (1-2 h). Posteriormente se hizo el montaje con resina sintética y el correspondiente rotulado. Se preparó tejido macerado o disociado sumergiendo astillas de cada muestra en una solución de peróxido de hidrógeno y ácido acético (1:1) para llevarlas a estufa (60 °C) durante 12 h y proceder a la individualización de células mediante fricción mecánica, tinción con safranina (30-45 min) y montaje con bálsamo de Canadá como medio de adhesión. La descripción se realizó siguiendo lo establecido por IAWA Committee (1989), tanto para caracteres cualitativos como cuantitativos. En estos últimos se hizo el cálculo de la estadística descriptiva (media, desviación estándar, valores máximos y mínimos, coeficiente de variación). También se realizó un análisis de varianza con su respectiva prueba de diferencia de medias (Tukey, α = 0,01), utilizando el programa SPSS Statistics 22.0. Se elaboraron claves dicotómicas para la separación de géneros y especies dentro de cada género.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los *CUADROS 2, 3 y 4* se presentan las características cualitativas de las 35 especies estudiadas mientras que en los *CUADROS 5 y 6* se incluyen las características cuantitativas con el análisis estadístico respectivo.

CUADRO 1. Lista de especies estudiadas, muestra de xiloteca, herbario y procedencia.

ESPECIE	MUESTRA XILOTECA	MUESTRA BOTÁNICA (COLECTOR, NÚMERO DE HERBARIO)	PROCEDENCIA (ESTADO)
Aniba canelilla (Kunth) Mez	X237	1632 Bernardi (17336)	Bolívar
Aniba robusta (Klotzsch & H. Karst.) Mez	X5410 X5177 X6158 X6316 X6317	--- 8791 van der Werff 61 Jorge Parra (53105) 81 Jorge Parra (53490) 81 Jorge Parra (53495)	Mérida Mérida Mérida Mérida Mérida
Beilschmiedia latifolia (Nees) Sach. Nishida	X3 X5418 X6301 X6302 X6303	Little 15302 (17382) --- 58 Jorge Parra (53497) 71 Jorge Parra (53496) 72 Jorge Parra(53488)	Mérida Mérida Mérida Mérida Mérida
Beilschmiedia mexicana (Mez) Kosterm.	X332	6115 Bernardi (17376)	Mérida
Beilschmiedia pendula (Sw.) Hemsl.	X972	12 Veillon (17380)	Mérida
Beilschmiedia tovarensis (Klotzsch & H. Karst. ex Meisn.) Sach. Nishida	X6171	64 Jorge Parra (53482)	Mérida
Cinnamomum triplinerve (Ruiz & Pav.) Kosterm.	X6157 X6170 X6377	62 Jorge Parra (53106) --- 80 Jorge Parra (53494)	Mérida Mérida Mérida
Licaria triandra (Sw.) Kosterm.	X230	1603 Bernardi (17405)	Bolívar
Nectandra bartlettiana Lasser	X4208 X5812	3728 Breteler (19845) 934 Ruíz Terán	Barinas
Nectandra globosa (Aubl.) Mez	MADw23013	42902 Wurdack & Adderley	Amazonas
Nectandra hihua (Ruiz & Pav.) Rohwer	X4207 X6676	3533 Breteler 875 Marcano B. (27912)	 Barinas
Nectandra laurel Klotzsch ex Nees	X6305 X6314 X6376	76 Jorge Parra 053483 Herbario MER 76 Parra	Mérida Mérida Mérida
Nectandra reticulata (Ruiz & Pav.) Mez	X125 X951 X3639	659 Lamprecht 4 Veillon PE 5	Barinas Barinas Barinas
Nectandra turbacensis (Kunth) Nees	X2917 MADw10124 MADw13475 MADw31080	113 Turner --- --- 12812 L. Williams	Portuguesa Bolívar
Ocotea aciphylla (Nees & Mart.) Mez	X5271 X5312 MADw42278	62-979 Marcano B. (28837) 128-979 Marcano B. (28769) 16128 R. Leisner	Amazonas Amazonas Amazonas
Ocotea amazonica (Meisn.) Mez	X293 X294	2758 Bernardi (17497) 2765 Bernardi (17611)	Bolívar Bolívar
Ocotea aurantiodora (Ruiz & Pav.) Mez	X3227	7067 Bernardi	Bolívar
Ocotea bofo Kunth	MADw31102 MADw31103	13319 L. Williams 13303 L. Williams	Bolívar Bolívar
Ocotea calophylla Mez	X24 X40	15326 Little (17508) 15318 Little (17507)	Mérida Mérida
Ocotea caracasana (Nees) Mez	MADw20550 MADw21098	Pittier (USw4215) Desconocido (USw 9868)	Mérida Mérida
Ocotea cernua (Nees) Mez	X90 X2628 X6151	1094 Bernardi (17514) 220 Bautista 1328 Ruíz Terán (17519)	Barinas Barinas Barinas
Ocotea cymbarum Kunth	X80 X106 X974 X2957 X3088	1 Veillon 1141 Bernardi (17523) 14 Veillon (17521) 1 Curran 7 Veillon	Bolívar Barinas Mérida Delta Amacuro Bolívar
Ocotea fendleri (Meisn.) Rohwer	MADw42207	5755 van der Werf	Mérida
Ocotea floribunda (Sw.) Mez	X6306 X6307	77 Jorge Parra (53486) 59 Jorge Parra (53485)	Mérida Mérida
Ocotea guianensis Aubl.	X270 X5250 X5301	2188 Bernardi (17548) 105-981 Marcano B.(33318) 110-979 Marcano B. (28775)	Zulia Bolívar Amazonas
Ocotea javitensis (Kunth) Pittier	X4206	3406 Breteler (19840)	Mérida Mérida
Ocotea karsteniana Mez	X246 X5464	19 Bascopé (17562)	Mérida
Ocotea longifolia Kunth	X969	9 Veillon (15574)	Mérida
Ocotea macropoda (Kunth) Mez	X4150 X6155 X6238	Jorge Parra (53544) 60 Jorge Parra (53104) 65 Jorge Parra (54422)	Mérida Mérida Mérida
Ocotea oblonga (Meisn.) Mez	X288	2745 Bernardi (17588)	Bolívar
Ocotea odorata (Meisn.) Mez	X961	1 Veillon	Mérida
Ocotea puberula (Rich.) Nees	X3261	7083 Bernardi (17630)	Bolívar
Ocotea schomburgkiana (Nees) Mez	X1115 X1952 X1953 X1954	485 Ruíz Terán (17597) --- --- ---	Falcón
Persea ferruginea	X5401	---	Mérida
Pleurothyrium trianae (Mez) Rohwer	X7054	3435 Gámez	Barinas

CUADRO 2. Características de anillos de crecimiento y vasos (porosidad, disposición, agrupación, placas de perforación y punteaduras intervasculares).

ESPECIE	ANILLOS DE CRECIMIENTO	POROSIDAD	DISPOSICIÓN	AGRUPACIÓN	PLACAS DE PERFORACIÓN	PUNTEADURAS INTERVASCULARES
Aniba canelilla	Definidos*	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2 (-3)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
A. robusta	Definidos*,**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-5), algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 4-11 barras	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
Beilschmiedia latifolia	Definidos*	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3, algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
B. mexicana	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2 (-3)	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 2-5 barras	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
B. pendula	Definidos*	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
B. tovarensis	Definidos*,**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3, algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 3 barras	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
Cinnamomum triplinerve	Definidos*,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4), algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 2-10 barras	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
Licaria triandra	No definidos	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
Nectandra barttletiana	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
N. globosa	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6), algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 4-5 barras	Alternas, circulares a ovaladas, medianas
N. hihua	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6), algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 3-5 barras	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
N. laurel	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4), algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 1-8 barras	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
N. reticulata	No definidos a definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-5), algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 4-8 barras	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
N. turbacensis	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
Ocotea aciphylla	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, algunas poligonales, medianas a grandes
O. amazonica	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-5), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. aurantiodora	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-5 (-6), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. bofo	No definidos a definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-5), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. calophylla	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3, algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 4-10 barras	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
O. caracasana	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
O. cernua	No definidos a definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-5), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. cymbarum	No definidos a definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. fendleri	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 4-10 barras	Alternas, circulares a ovaladas, medianas
O. floribunda	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. guianensis	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-5 (-7), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes

CUADRO 2. Continuación.

ESPECIE	ANILLOS DE CRECIMIENTO	POROSIDAD	DISPOSICIÓN	AGRUPACIÓN	PLACAS DE PERFORACIÓN	PUNTEADURAS INTERVASCULARES
O. javitensis	Ligeramente definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-6), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. karsteniana	No definidos	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3, algunos arracimados	Predominantemente simples combinadas con escalariformes de 3-8 barras	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. longifolia	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, pred. múltiples radiales de 2-6	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, algunas poligonales, grandes
O. macropoda	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, algunas poligonales, grandes
O. oblonga	No definidos	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. odorata	Definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, pred. múltiples radiales de 2-5 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, grandes
O. puberula	Ligeramente definidos**	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas
O. schomburgkiana	Definidos**,***	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6), algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas a grandes
Persea ferruginea	No definidos	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3, algunos arracimados	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, medianas
Pleurothyrium trianae	No definidos	Difusa	Sin patrón	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas, ocasionalmente poligonales, grandes

*Estrechas bandas de parénquima marginal. ** Reducción de diámetro radial de las fibras. ***Engrosamiento de paredes de las fibras

CUADRO 3. Características de vasos (punteaduras radiovasculares, depósitos), fibras (septas, grosor de paredes, tipo de punteaduras) y traqueidas.

ESPECIE	PUNTEADURAS RADIOVASCULARES	DEPÓSITOS EN VASOS	SEPTAS EN FIBRAS	GROSOR DE PAREDES DE FIBRAS	PUNTEADURAS DE FIBRAS	TRAQUEIDAS
Aniba canelilla	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides, esclerotílides	+	Muy gruesas	Indistintamente areoladas	-
A. robusta	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	-	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
Beilschmiedia latifolia	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	-	Delgadas a medianas, ocasionalmente gruesas	Indistintamente areoladas	-
B. mexicana	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Idem	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
B. pendula	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	-	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
B. tovarensis	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	-	+	Medianas	Indistintamente areoladas	-
Cinnamomum triplinerve	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides, esclerotílides	-	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
Licaria triandra	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Muy gruesas	Indistintamente areoladas	-
Nectandra barttletiana	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
N. globosa	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
N. hihua	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
N. laurel	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
N. reticulata	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas; ocasionalmente delgadas	Indistintamente areoladas	-
N. turbacensis	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas; ocasionalmente gruesas	Indistintamente areoladas	-

CUADRO 3. Continuación.

ESPECIE	PUNTEADURAS RADIOVASCULARES	DEPÓSITOS EN VASOS	SEPTAS EN FIBRAS	GROSOR DE PAREDES DE FIBRAS	PUNTEADURAS DE FIBRAS	TRAQUEIDAS
Ocotea aciphylla	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas; ocasionalmente delgadas	Indistintamente areoladas	-
O. amazonica	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. aurantiodora	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
O. bofo	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas, ocasionalmente gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. calophylla	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas	Indistintamente areoladas	-
O. caracasana	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. cernua	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. cymbarum	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides, ocasionalmente esclerotílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. fendleri	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. floribunda	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. guianensis	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas; ocasionalmente medianas a gruesas	Indistintamente areoladas	-
O. javitensis	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
O. karsteniana	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas	Indistintamente areoladas	-
O. longifolia	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
O. macropoda	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-
O. oblonga	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas	Indistintamente areoladas	-
O. odorata	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Delgadas	Indistintamente areoladas	-
O. puberula	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Muy delgadas a delgadas	Indistintamente areoladas	-
O. schomburgkiana	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas a gruesas, ocasionalmente delgadas	Indistintamente areoladas	-
Persea ferruginea	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	Tílides	+	Medianas	Indistintamente areoladas	-
Pleurothyrium trianae	Areola reducida o aparentemente simples, forma redondeada o alargada	-	+	Delgadas a medianas	Indistintamente areoladas	-

+ Presente. - Ausente

CUADRO 4. Características de tipo de parénquima en sección transversal y tangencial, tipo de radios en cuanto a composición, presencia y ubicación de células oleíferas.

ESPECIE	PARÉNQUIMA (TRANSVERSAL)	PARÉNQUIMA (TANGENCIAL)	RADIOS	CÉLULAS OLEÍFERAS
Aniba canelilla	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, unilateral, marginal	Series de 2-4 células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, ocasionalmente entre las fibras)
A. robusta	Escaso, vasicéntrico, aliforme de ala corta, marginal	Series de (2-) 4-8 células	Heterocelulares con 1-2 (-3) rutas de células	+ (parénquima axial y radial)
Beilschmiedia latifolia	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, confluente, ocasionalmente unilateral, marginal	Fusiforme y series de 2-4 células, predominantemente series de 2 células	Heterocelulares con 1 (-4) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, ocasionalmente entre las fibras)
B. mexicana	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta	Series de 2-6 células	Heterocelulares con 1-2 rutas de células	+ (parénquima axial y radial)
B. pendula	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, confluente, marginal	Series de 2-4 células, pred. 2 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial)
B. tovarensis	Escaso, vasicéntrico delgado, marginal	Fusiforme y series de 2-5 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial y radial)
Cinnamomum triplinerve	Escaso, vasicéntrico delgado, ocas. aliforme de ala corta, marginal	Series de 2-3 (-6) células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)

CUADRO 4. Continuación.

ESPECIE	PARÉNQUIMA (TRANSVERSAL)	PARÉNQUIMA (TANGENCIAL)	RADIOS	CÉLULAS OLEÍFERAS
Licaria triandra	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, unilateral	Series de 4-8 células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial y radial)
Nectandra barttletiana	Vasicéntrico, aliforme de ala corta, confluente	Series de 2-6 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial y radial)
N. globosa	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente	Series de 2-6 (-8) células	Heterocelulares con una ruta de células; ocasionalmente homocelulares de células procumbentes.	+ (parénquima axial, radial, ocasionalmente entre las fibras)
N. hihua	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente	Series de 2-4 (-8) células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial y radial)
N. laurel	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente	Series de (2-) 4-8 células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	-
N. reticulata	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente	Series de (2-) 4-8 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)
N. turbacensis	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente, unilateral	Series de 2-8 células	Heterocelulares con una ruta de células	-
Ocotea aciphylla	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente, unilateral	Series de 2-6 (-8) células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)
O. amazonica	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, ocasionalmente confluente	Series de 2-4 (-8) células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial, radial, ocasionalmente entre las fibras)
O. aurantiodora	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de (2-) 4-12 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial y radial)
O. bofo	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta	Series de 2-5 (-8) células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial y radial)
O. calophylla	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de (2-) 4-8 (-10) células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células	-
O. caracasana	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 4-7 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial y radial)
O. cernua	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, confluente, unilateral	Series de 2-8 células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)
O. cymbarum	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, confluente, unilateral	Series de (2-) 4-8 células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)
O. fendleri	Escaso, vasicéntrico delgado, confluente	Series de 2-6 células	Heterocelulares con 1-2 (-3) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)
O. floribunda	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de (2-) 3-6 células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras, pred. radios)
O. guianensis	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 2-6 (-8) células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células; ocasionalmente homocelulares de células procumbentes	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras, pred. radios)
O. javitensis	Escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta	Series de 2-4 (-6) células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células	+ (parénquima axial y radial)
O. karsteniana	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 2-6 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial y radial)
O. longifolia	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 2-4 (-7)	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)
O. macropoda	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 2-8 células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células	Ausentes, ocasionalmente en parénquima radial
O. oblonga	Escaso	Series de 4-9 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras, pred. radios)
O. odorata	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 2-4 (-8)	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras, pred. radios)
O. puberula	Escaso, vasicéntrico delgado	Series de 2-4	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima radial)
O. schomburg-kiana	Escaso, vasicéntrico delgado, ocasionalmente aliforme de ala corta, confluente	Series de 3-8 células	Heterocelulares con 1 (-2) rutas de células	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras, pred. radios)
Persea ferruginea	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, confluente	Fusiforme (poco) y series de 2-6 células	Heterocelulares con una ruta de células	+ (parénquima axial)
Pleurothyrium trianae	Vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta, confluente	Fusiforme (poco) y series de 2-6 células	Heterocelulares con 1 (-3) rutas de células, ocasionalmente homocelulares de células procumbentes	+ (parénquima axial, radial, entre las fibras)

+ Presente. - Ausente

CUADRO 5. Características cuantitativas de vasos: vasos/mm^2, diámetro de vasos y punteaduras (mínimo, promedio, desviación estándar, máximo, número de mediciones, coeficiente de variación, prueba de Tukey).

ESPECIE	VASOS/ mm^2	DIÁMETRO VASOS (μm)	DIÁM. PUNTEADURAS (μm)	LEV (μm)
Aniba canelilla	9	(100) 142,4^{g,h,i,j,k} ± 22,78 (190) n = 25; CV = 15,98 %	(10) 11,25^{c,d,e,f,g,h,i} ± 1,318 (13,75) n = 10; CV = 11,72 %	(320) 428,09^{a,b,c,d} ± 70,9 (630) n = 21; CV = 16,56 %
A. robusta	11-17	(75) 107,65^{a,b} ± 16,81 (170) n = 100; CV = 15,61 %	(10) 11,219^{c,d,e,f,g,h,i} ± 1,114 (13,75) n = 40; CV = 9,93 %	(240) 566,25^{f,g,h,i,j,k} ± 142,54 (930) n = 100; CV = 25,17 %
Beilschmiedia latifolia	4-5	(105) 161,65^{k,l,m,n} ± 29,99 (290) n = 118; CV = 18,55 %	(7,5) 10,475^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,126 (13,75) n = 50; CV = 10,75 %	(190) 378,12^{a} ± 96,1 (720) n = 125; CV = 25,41 %
B. mexicana	18	(90) 110,8^{a,b,c,d} ± 11,43 (130) n = 25; CV = 10,32 %	(10) 11,5^{d,e,f,g,h,i} ± 1,149 (12,5) n = 10; CV = 9,99 %	(350) 618,4^{h,i,j,k,l} ± 118,49 (830) n = 25; CV = 19,16 %
B. pendula	5	(110) 142,6^{g,h,i,j,k} ± 20,26 (200) n = 25; CV = 14,21 %	(10) 10,5^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,645 (11,25) n = 10; CV = 6,14 %	(260) 401,6^{a,b} ± 70,72 (505) n = 25; CV = 17,61 %
B. tovarensis	10	(100) 128,4^{b,c,d,e,f,g,h} ± 12,89 (145) n = 25; CV = 10,04 %	(8,75) 9,25^{a,b} ± 0,645 (10) n = 10; CV = 6,97 %	(300) 498,2^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 101,61 (720) n = 25; CV = 20,39 %
Cinnamomum triplinerve	16-21	(70) 108,53^{a,b,c} ± 20,92 (150) n = 75; CV = 19,27 %	(8,75) 9,917^{a,b,c,d,e} ± 0,925 (-11,25) n = 30; CV = 9,33 %	(245) 524,6^{c,d,e,f,g,h,i} ± 114,75 (850) n = 50; CV = 21,87 %
Licaria triandra	12	(90) 115,8^{a,b,c,d,e} ± 11,69 (135) n = 25; CV = 10,09 %	(8,75) 10^{a,b,c,d,e,f} ± 0,884 (11,25) n = 5; CV = 8,84%	(380) 522,5$^{b,c,d,e.f.g.h.i}$ ± 120,84 (750) n = 22; CV = 23,13 %
Nectandra bart-tletiana	9	(120) 163,8^{l,m,n} ± 22,37 (210) n = 25; CV = 13,66 %	(8,75) 9,75^{a,b,c,d} ± 0,986 (11,25) n = 10; CV = 10,11 %	(290) 514^{b,c,d,e,f,g,h} ± 126,48 (735) n = 25; CV = 24,61 %
N. globosa	16	(95) 111,8^{a,b,c,d} ± 10,49 (140) n = 25; CV = 9,38 %	(8,75) 9,5^{a,b,c} ± 0,645 (10) n = 10; CV = 6,79 %	(245) 407,8^{a,b,c} ± 94,41 (595) n = 25; CV = 23,15 %
N. hihua	14-15	(100) 138,6^{f,g,h,i,j} ± 19,17 (180) n = 50; CV = 13,83 %	(10) 11,312^{d,e,f,g,h,i} ± 0,858 (12,5) n = 20; CV = 7,58 %	(265) 468,7^{a,b,c,d,e,f,g} ± 101,35 (725) n = 50; CV = 21,62 %
N. laurel	12-17	(85) 121,73^{a,b,c,d,e,f,g} ± 21,96 (190) n = 75; CV = 18,04 %	(10) 10,75^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 0,963 (12,5) n = 30; CV = 8,96 %	(310) 498,27^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 118,2 (930) n = 75; CV = 23,72 %
N. reticulata	8-14	(105) 152,00^{i,j,k,l,m} ± 20,25 (195) n = 75; CV = 13,32 %	(10) 11,625^{e,f,g,h,i} ± 1,046 (15) n = 30; CV = 8,98 %	(325) 555,4^{e,f,g,h,i,j,k} ± 124,8 (855) n = 74; CV = 22,47 %
N. turbacensis	11-24	(90) 136,85^{f,g,h,i,j} ± 24,17 (210) n = 100; CV = 17,66 %	(10) 10,5^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,791 (12,5) n = 40; CV = 7,53 %	(240) 466,25^{a,b,c,d,e,f,g} ± 99,78 (715) n = 100; CV = 21, 4 %
Ocotea aciphylla	7-16	(110) 161,47^{k,l,m,n} ± 24,19 (225) n = 75; CV = 14,98 %	(7,5) 10,125^{a,b,c,d,e,f} ± 1,106 (12,5) n = 30; CV = 10,92 %	(260) 546,08^{d,e,f,g,h,i,j} ± 145,41 (970) n = 74; CV = 26,63 %
O. amazonica	9-10	(120) 166,2^{m,n} ± 25,16 (230) n = 50; CV = 15,14 %	(11,25) 13^{i,j} ± 1,175 (15) n = 20; CV = 9,04 %	(290) 647,45^{j,k,l} ± 156,45 (1100) n = 47; CV = 24,16 %
O. aurantiodora	10	(125) 155,2^{j,k,l,m,n} ± 18,68 (205) n = 25; CV = 12,04 %	(10) 11,125^{c,d,e,f,g,h} ± 0,922 (12,5) n = 10; CV = 8,29 %	(315) 523,8^{c,d,e,f,g,h,i} ± 129,81 (815) n = 25; CV = 24,78 %
O. bofo	16-18	(90) 121,00^{a,b,c,d,e,f} ± 15,55 (160) n = 50; CV = 12,85 %	(10) 10,937^{b,c,d,e,f,g,h} ± 1,063 (12,5) n = 20; CV = 9,72 %	(245) 459,1^{a,b,c,d,e,f} ± 112,71 (760) n = 50; CV = 24,55 %
O. calophylla	8-11	(100) 129,00^{c,d,e,f,g,h} ± 16,47 (180) n = 50; CV = 12,77 %	(7,5) 12,411^{h,i,j} ± 3,483 (17,5) n = 14; CV = 28,06 %	(360) 673,3^{k,l} ± 157,34 (990) n = 50; CV = 23,37 %
O. caracasana	11-21	(95) 133,9^{e,f,g,h,i} ± 21,46 (185) n = 50; CV = 16,03 %	(8,75) 9,861^{a,b,c,d,e} ± 1,04 (11,25) n = 18; CV = 10,55 %	(325) 499,5^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 89,73 (730) n = 50; CV = 17,96 %
O. cernua	11-16	(70) 106,13^{a} ± 16,63 (150) n = 75; CV = 15,67 %	(10) 10,792^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 0,769 (12,5) n = 30; CV = 7,12 %	(245) 463,67^{a,b,c,d,e,f,g} ± 96,21 (680) n = 75; CV =
O. cymbarum	6-11	(85) 133,88^{e,f,g,h,i} ± 28,26 (205) n = 125; CV = 21,11 %	(8,75) 11,4^{d,e,f,g,h,i} ± 1,202 (13,75) n = 50; CV = 10,54 %	(255) 496,32^{a,b,c,d,e,f,g} ± 116,48 (760) n = 125; CV = 23,47 %
O. fendleri	15	(80) 105^{a} ± 11,90 (130) n = 25; CV = 11,33 %	(8,75) 9,125^{a} ± 0,604 (-10) n = 10; CV = 6,62 %	(305) 618,8^{h,i,j,k,l} ± 158,89 (910) n = 25; CV = 25,68 %
O. floribunda	9-14	(90) 137,90^{f,g,h,i,j} ± 21,83 (180) n = 50; CV = 15,83 %	(10) 11,312^{d,e,f,g,h,i} ± 1,248 (15) n = 20; CV = 11,03 %	(230) 479,7^{a,b,c,d,e,f,g} ± 141,02 (855) n = 50; CV = 23,4 %
O. guianensis	9-13	(100) 135,73^{e,f,g,h,i,j} ± 15,65 (170) n = 75; CV = 11,53 %	(10) 11,958^{g,h,i} ± 1,380 (15) n =30; CV = 11,54 %	(310) 540,7^{d,e,f,g,h,i,j} ± 120,99 (950) n =50; CV = 22,38 %
O. javitensis	10	(110-) 141,80^{f,g,h,i,j,k} ± 21,30 (-205) n = 25; CV = 15,02 %	(10) 10,625^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 0,66 (11,25) n = 10; CV = 6,2 %	(310) 515,6^{b,c,d,e,f,g,h} ± 95,05 (700) n = 25; CV = 18,43 %
O. karsteniana	10-11	(100-) 139,20^{f,g,h,i,j} ± 20,54 (-180) n = 50; CV = 14,76 %	(10) 11,562^{e,f,g,h,i} ± 0,895 (12,5) n = 20; CV = 7,74 %	(350) 692,3^{l} ± 159,05 (1070) n= 50; CV = 22,97 %
O. longifolia	19	(105-) 143,^{40h,i,j,k,l} ± 17,6 (-180) n = 25; CV = 12,27 %	(10) 11,75^{f,g,h,i} ± 0,874 (12,5) n = 10; CV = 7,44%	(350) 580,8^{g,h,i,j,k,l} ±108 (760) n = 25; CV = 18,59 %
O. macropoda	7-16	(100-) 138,73^{f,g,h,i,j} ± 21,98 (-220) n = 75; CV = 15,84 %	(12,5) 13,75^{j} ± 1,353 (17,5) n = 30; CV = 9,84 %	(280) 526,87^{c,d,e,f,g,h,i,j} ± 124,4 (845) n = 75; CV = 23,62 %
O. oblonga	8	(125-) 174,60^{n} ± 24,70 (-220) n = 25; CV = 14,15 %	(10) 10,625^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 0,884 (12,5) n = 10; CV = 8,32 %	(385) 639,6^{i,j,k,l} ± 144,16 (930) n = 25; CV = 22,54 %
O. odorata	12	(125-) 154,00^{i,j,k,l,m,n} ± 17,56 (-190) n = 25; CV = 11, 4 %	(10) 10,625^{a,b,c,d,e,f,g,h} ± 0,66 (11,25) n = 10; CV = 6,2 %	(335) 545,4^{d,e,f,g,h,i,j} ± 140,3 (800) n = 25; CV = 25,72 %
O. puberula	7	(110-) 137,00^{f,g,h,i,j} ± 17,08 (-180) n =25; CV = 12,47 %	(8,75) 9,125^{a} ± 0,604 (10) n = 10; CV = 6,62 %	(255) 528,67^{c,d,e,f,g,h,i,j} ± 158,4 (790) n = 15; CV = 29,96 %
O. schomburg-kiana	8-11	(80-) 129,85^{d,e,f,g,h} ± 24,05 (-180) n = 100; CV = 18,52 %	(8,75) 10^{a,b,c,d,e,f} ± 0,939 (11,25) n = 40; CV = 9,39 %	(290) 525,85^{c,d,e,f,g,h,i,j} ± 125,6 (825) n = 100; CV = 23,88 %
Persea ferruginea	11	(110-) 129,8^{d,e,f,g,h} ± 11,77 (-160) n = 25; CV = 9,07 %	(8,75) 9,875^{a,b,c,d,e} ± 0,709 (11,25) n = 10; CV = 7,18 %	(305) 438,6^{a,b,c,d,e} ± 69,21 (580) n = 25; CV = 15,78 %
Pleurothyrium trianae	6	(100-) 144,40^{h,i,j,k,l} ± 17,99 (-190) n = 25; CV = 12,46 %	(8,75) 10,125^{a,b,c,d,e,f} ± 0,709 (11,25) n = 10; CV = 6,99 %	(395) 551,8^{e,f,g,h,i,j,k} ± 86,31 (700) n =25; CV = 15,64 %

NOTA: letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,01).

CUADRO 6. Longitud de fibras, altura y frecuencia de radios (mínimo, promedio, desviación, máximo, número de mediciones, coeficiente de variación, prueba de Tukey), ancho de radios (número de células).

ESPECIE	LONGITUD DE FIBRAS (µm)	ALTURA DE RADIOS (µm)	RADIOS/mm	ANCHO RADIOS (# CÉLULAS)
Aniba canelilla	(990-) 1187,4^{a,b,c,d,e} ± 125,67 (-1465) n = 25; CV = 10,58 %	(320) 434,6^{c,d,e,f,g,h,i,j,k} ± 106,37 (800) n = 25; CV = 24,47 %	(4) 6,3^{d,e,f,g} ± 1,418 (8) n = 10; CV = 22,51 %	(2-) 3
A. robusta	(1100) 1391,25^{g,h,i,j,k,l,m} ± 147,5 (1720) n = 92; CV = 10,6 %	(260) 514,1^{f,g,h,l,j,k,l,m,n} ± 120 (900) n = 100; CV = 23,34 %	(4) 5,85^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,122 (8) n = 40; CV = 19,18 %	2-3 (-4)
Beilschmiedia latifolia	(970) 1361,92^{f,g,h,i,j,k,l,m} ± 201,47 (1920) n = 125; CV = 14,79 %	(215) 427,6$^{b,c,d,e,f,g.h,i}$ ± 89,62 (690) n = 125; CV = 20,96 %	(4) 6,62^{e,f,g} ± 1,292 (10) n = 50; CV = 19,52 %	1-4 (-5), pred. 3-4
B. mexicana	(920) 1203^{a,b,c,d,e,f} ± 129,22 (1410) n = 25; CV = 10,74 %	(310) 452,8^{d,e,f,g,h,i,j,k,l} ± 100,32 (750) n = 25; CV = 22,15 %	(4) 5,4^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,966 (7) n = 10; CV = 17,89 %	1-2 (-3)
B. pendula	(1150) 1441$^{j,k,l.m}$ ± 150,48 (1660) n = 25; CV = 10,44 %	(240) 322,6^{a,b} ± 47,68 (430) n = 25; CV = 14,78 %	(6) 6,9^{g} ± 0,994 (9) n = 10; CV = 14,41 %	1-2 (-3)
B. tovarensis	(1080) 1266,6^{b,c,d,e,f,g,h} ± 140,54 (1610) n = 25; CV = 11,09 %	(320) 509,2^{f,g,h,i,j,k,l,m,n} ± 102,52 (800) n = 25; CV = 20,13 %	(3) 4,3^{a} ± 0,823 (5) n = 10; CV = 19,14 %	1-3 (-4), pred. 3
Cinnamomum triplinerve	(1050) 1300,2^{d,e,f,g,h,i,j,k} ± 154,24 (1650) n = 50; CV = 11,86%	(290) 430,87^{c,d,e,f,g,h,i,j} ± 96,81 (680) n = 75; CV = 22,47 %	(4) 6,367^{e,f,g} ± 1,351 (10) n = 30; CV = 21,22 %	2-3 (-4)
Licaria triandra	(1100) 1376,6^{g,h,i,j,k,l,m} ± 149,41 (1660) n = 25; CV = 10,85 %	(320) 443,8$^{c.d.e.f.g.h,i,j,k}$ ± 72,7 (600) n = 25; CV = 16,38 %	(4) 4,7^{a,b,c,d} ± 0,823 (6) n = 10; CV = 17,61 %	1-2, pred. biseriados
Nectandra barttletiana	(1050) 1296,2^{c,d,e,f,g,h,i,j,k} ± 136,41 (1530) n = 25; CV = 10,52 %	(260) 409,8^{b,c,d,e,f,g} ± 86,35 (530) n = 25; CV = 21,07 %	(4) 6,1^{b,c,d,e,f,g} ± 1,1 (8) N = 10; CV = 18,03 %	2-3 (-4)
N. globosa	(840) 1059^{a} ± 118,95 (1355) n = 25; CV = 11,23 %	(245) 290,8^{a} ± 30,06 (350) n = 25; CV = 10,34 %	(4) 6,2^{c,d,e,f,g} ± 1,135 (8) n = 10; CV = 18,31 %	(2-) 3-4
N. hihua	(935) 1261,7^{b,c,d,e,f,g,h} ± 133,22 (1565) n = 50; CV = 10,56 %	(335) 537,3^{j,k,l,m,n} ± 126,03 (950) n = 50; CV = 23,46 %	(4) 5^{a,b,c,d,e} ± 0,858 (6) n = 20; CV = 17,16 %	1-3,pred. 3
N. laurel	(970) 1282,8^{b,c,d,e,f,g,h,i,j} ± 149,47 (1620) n = 75; CV = 11,65 %	(360) 557,07^{l,m,n} ± 143,46 (1100) n =75; CV = 25,75 %	(4) 5,5^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,731 (7) n = 30; CV = 13,29 %	2-4, pred. 2-3
N. reticulata	(1110) 1456,8^{k,l,m} ± 196,29 (1970) n =75; CV = 13,47 %	(280) 492,2^{e,f,g,h,i,j,k,l,m} ± 119,41 (820) n = 75; CV = 24,26 %	(4) 5,47^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,074 (7) n = 30; CV = 19,64 %	(1-) 2-3 (-4); pred. 3
N. turbacensis	(945) 1163,45^{a,b,c,d} ± 176,01 (1650) n = 100; CV = 15,13 %	(250) 434,7^{c,d,e,f,g,h,i,j,k} ± 152,94 (1170) n = 100; CV = 35,18 %	(4) 6,15^{b,c,d,e,f,g} ± 1,122 (9) n = 40; CV = 18,24 %	2-4
Ocotea aciphylla	(1065) 1321,93^{d,e,f,g,h,i,j,k,l} ± 159,94 (1690) n = 75; CV = 12,1 %	(250) 388,33^{a,b,c,d,e} ± 83 (575) n = 75; CV = 21,37 %	(3) 4,3^{a} ± 0,988 (7) n = 30; CV = 22,98 %	(1-) 2-3
O. amazonica	(1170) 1435,6^{i,j,k,l,m} ± 158,53 (2030) n = 50; CV = 11,04 %	(370) 560,9^{m,n} ± 130,82 (960) n = 50; CV = 23,32 %	(3) 5,45^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,432 (8) n = 20; CV = 26,27 %	2
O. aurantiodora	(1080) 1315^{d,e,f,g,h,i,j,k} ± 150,35 (1720) n = 25; CV = 11,43 %	(310) 426,8^{b,c,d,e,f,g,h,i} ± 61,74 (540) n = 25; CV = 14,47 %	(4) 4,5^{a,b} ± 0,527 (5) n = 10; CV = 11,71 %	(1-) 2-3 (-4)
O. bofo	(850) 1127,6^{a,b} ± 147,61 (1440) n = 50; CV = 13,09 %	(260) 410,8^{b,c,d,e,f,g} ± 100,9 (670) n = 50; CV = 24,56 %	(4) 6^{b,c,d,e,f,g} ± 0,858 (7) n = 20; CV = 14,3 %	2-3; pred. 3
O. calophylla	(1065) 1439^{j,k,l,m} ± 171,95 (1780) n = 50; CV = 11,95 %	(340) 504,1^{f,g,h,i,j,k,l,m,n} ± 101,9 (745) n = 50; CV = 20,21 %	(3) 4,6^{a,b,c} ± 1,188 (8) n = 20; CV = 25,83 %	(1-) 2-3
O. caracasana	(1155) 1483,9^{l,m} ± 200,9 (2060) n = 50; CV = 13,54 %	(280) 426,9^{b,c,d,e,f,g,h,i} ± 82,58 (690) n = 50; CV = 19,34 %	(5) 6,35^{d,e,f,g} ± 1,04 (8) n = 20; CV = 16,38 %	(2-) 3-4 (-5)
O. cernua	(1000) 1253,53^{b,c,d,e,f,g} ± 134,4 (1600) n = 75; CV = 10,72 %	(370) 602,93^{n} ± 136,24 (940) n =75; CV = 22,6 %	(5) 5,87^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,819 (8) n = 30; CV = 13,96 %	2-3 (-4)
O. cymbarum	(1030) 1443,04^{j,k,l,m} ± 193,36 (1920) n = 125; CV = 13,4 %	(260) 495,64^{e,f,g,h,i,j,k,l,m,n} ± 121,84 (820) n = 125; CV = 24,58 %	(5) 6,3^{d,e,f,g} ± 0,839 (8) n = 5; CV = 13,32 %	2-4 (-5), pred. 3
O. fendleri	(1150) 1491,4^{m} ± 193,52 (1860) n = 25; CV = 12,98 %	(340) 496^{f,g,h,i,j,k,l,m,n} ± 84,56 (690) n = 25; CV = 17,05 %	(4) 5,1^{a,b,c,d,e,f} ± 1,197 (7) n = 10; CV = 23,47 %	2-3
O. floribunda	(880) 1272,3^{b,c,d,e,f,g,h,i} ± 149,83 (1570) n = 50; CV = 11,78 %	(325) 463,6^{d,e,f,g,h,l,j,k,l,m} ± 89,69 (820) n = 50; CV = 19,35 %	(3) 5,95^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,572 (8) n = 20; CV = 26,42 %	2-3 (-4)
O. guianensis	(975) 1258^{b,c,d,e,f,g} ± 136,76 (1620) n = 50; CV = 10,87 %	(240) 382,87^{a,b,c,d} ± 78,46 (610) n = 75; CV = 20,49 %	(3) 5,2^{a,b,c,d,e,f} ± 1,215 (8) n = 30; CV = 23,36 %	(1-) 2-3
O. javitensis	(1210) 1492,8^{m} ± 164,36 (1970) n = 25; CV = 11,01 %	(250) 407^{b,c,d,e,f} ± 49,33 (495) n = 25; CV = 12,12 %	(4) 5,7^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,252 (8) n = 10; CV = 21,96 %	(1-) 2-3
O. karsteniana	(1130) 1483,3^{l,m} ± 185,21 (1955) n = 50; CV = 12,49 %	(290) 417,8^{b,c,d,e,f,g,h} ± 86,36 (600) n = 50; CV = 20,67 %	(3) 5^{a,b,c,d,e} ± 0,795 (7) n = 20; CV = 15,9 %	2-3 (-4)
O. longifolia	(1130) 1379,4^{g,h,i,j,k,l,m} ± 140,7 (1690) n = 25; CV = 10,2 %	(330) 517^{g,h,l,j,k,l,m,n} ± 125,66 (760) n = 25; CV = 24,31 %	(5) 6,2^{c,d,e,f,g} ± 0,632 (7) n = 10; CV = 10,19 %	2- 3 (-4)
O. macropoda	(985) 1255,53^{b,c,d,e,f,g} ± 122,14 (1510) n = 75; CV = 9,73 %	(270) 464,4^{d,e,f,g,h,i,j,k,l,m} ± 111,49 (790) n = 75; CV = 24,01 %	(4) 5^{a,b,c,d,e} ± 1,083 (7) n = 30; CV = 21,66 %	2-4, pred. 3
O. oblonga	(1170) 1446,8^{j,k,l,m} ± 168,34 (1770) n = 25; CV = 11,63 %	(490) 736,8^{o} ± 219,78 (1350) n = 25; CV = 29,83 %	(3) 4,6^{a,b,c} ± 1,075 (7) n = 10; CV = 23,37 %	(2-) 3-4
O. odorata	(970) 1131,8^{a,b,c} ± 102,86 (1330) n = 25; CV = 9,09 %	(260) 358,4^{a,b,c,d} ± 58,23 (510) n = 25; CV = 16,25 %	(4) 5,6^{a,b,c,d,e,f,g} ± 1,174 (7) n = 10; CV = 20,96 %	2-3, pred. 3
O. puberula	(980) 1208,8^{a,b,c,d,e,f} ± 148,15 (1490) n = 25; CV = 12,26 %	(365) 540,4^{k,l,m,n} ± 132,07 (870) n = 25; CV = 24,44 %	(3) 4,5^{a,b} ± 0,85 (6) n = 10; CV = 18,89 %	2-3, pred. 3
O. schomburg-kiana	(1030) 1424,45^{h,i,j,k,l,m} ± 226,81 (2100) n = 100; CV = 15,92 %	(330) 523^{h,i,j,k,l,m,n} ± 108,24 (910) n = 100; CV = 20,7 %	(5) 6,75^{f,g} ± 1,006 (10) n = 40; CV = 14,9 %	2-3 (-4)
Persea ferru-ginea	(1100) 1345,4^{g,h,i,j,k,l,m} ± 164,02 (1700) n = 25; CV = 12,19 %	(280) 337,6^{a,b,c} ± 49,88 (470) n = 25; CV = 14,77 %	(4) 5,1^{a,b,c,d,e,f} ± 0,876 (7) n = 10; CV = 17,148 %	2-3 (-4), pred. 3
Pleurothyrium trianae	(1200) 1491,8^{m} ± 160,48 (1750) n = 25; CV = 10,76 %	(390) 534^{i,j,k,l,m,n} ± 92,05 (710) n = 25; CV = 17,24 %	(4) 6^{b,c,d,e,f,g} ± 1,054 (7) n =10; CV = 17,57 %	2-4 (-6), pred. 3-4

NOTA: letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,01).

CLAVE A NIVEL GENÉRICO

1a.Parénquima marginal presente 2
b.Parénquima marginal ausente 4
2a.Fibras septadas presentes ....
.... *Aniba*, *Beilschmiedia*
b.Fibras exclusivamente no septadas 3
3a.Placas de perforación escalariformes presentes .... *Cinnamomun*
b.Placas de perforación exclusivamente simples .... *Beilschmiedia*
4a.Parénquima fusiforme presente 6
b.Parénquima exclusivamente en series 5
5a.Fibras exclusivamente de paredes muy gruesas .... *Licaria*
b.Fibras de paredes delgadas a gruesas ....
.... *Beilschmiedia, Nectandra, Ocotea*
6a.Radios con altura promedio mayor de 500 µm .... *Pleurothyrium*
b.Radios con altura promedio menor de 500 µm .... *Persea*

Las especies estudiadas se pueden dividir en dos grupos de acuerdo a la presencia o ausencia de parénquima marginal.

GRUPO I: ESPECIES CON PARÉNQUIMA MARGINAL (FIGURA 1)

En el primer grupo se incluye el 17,14 % del total de especies estudiadas y se ubican en tres géneros: dos especies de *Aniba*, tres especies de *Beilschmiedia* (75 % de las especies estudiadas del género) y la única especie de *Cinnamomum* incluida en el presente estudio. Dentro de este primer grupo, también se pueden establecer separaciones con base a la presencia o ausencia de fibras septadas *(FIGURA 2)* y el tipo de placa de perforación *(FIGURA 3)*. Se destaca *Beilschmiedia* como el único género con representantes en ambos grupos: tres en el grupo de especies con parénquima marginal y una en el grupo donde no se presenta esta característica. Richter (1987) señala que la presencia de parénquima marginal en Lauraceae ocurre en los géneros *Beilschmiedia*, *Endiandra*, *Potameia*, *Triadodaphne*, en algunas especies de *Cryptocarya*, *Ravensara* y en *Licaria subbullata* Kosterm. Es importante destacar que las observaciones de Richter (1987) no incluyen a *Aniba* y *Cinnamomum* entre los géneros con parénquima marginal. Sun *et al.* (2015) estudiaron 56 especies de Lauraceae y mencionan a *Beilschmiedia* como el único género donde se desarrolla parénquima marginal. Sin embargo, existen reportes indicativos de la ausencia de parénquima marginal en algunas especies del género: *B. miersii* (Rancusi *et al.* 1987), *B. assamica*, *B. roxburghiana* (Purkayastha 1985). Por otra parte, León & Espinoza (2000b) estudiaron siete especies de *Beilschmiedia* y sólo *B. mexicana* no presentó parénquima marginal. Con respecto a *Aniba*, se ha reportado este tipo de parénquima en *A. canelilla* (Richter 1981, León & Espinoza 2000a, León 2014), *A. ferrea* (Richter 1981), *A. riparia* (León & Espinoza 2000a), *A. robusta* (Parra 2009). Con relación a *Cinnamomum*, Andianto *et al.* (2015) describen las especies *C. burmannii*, *C. coriaceum*, *C. xanthoneurum* y *C. zeylanicum* e indican que no se presenta parénquima marginal. Reportes similares se tienen para *C. bejolghota* (Singh *et al.* 2015), *C. cecidodaphne* (Sing *et al.* 2015), *C. camphora* (Kribs 1968), *C. tamala* (Singh *et al.* 2015), *C. zeylanicum* (Singh *et al.* 2015). Sin embargo, Parra (2009) coincide con lo encontrado en el presente estudio en relación a la presencia de parénquima marginal en *C. triplinerve*.

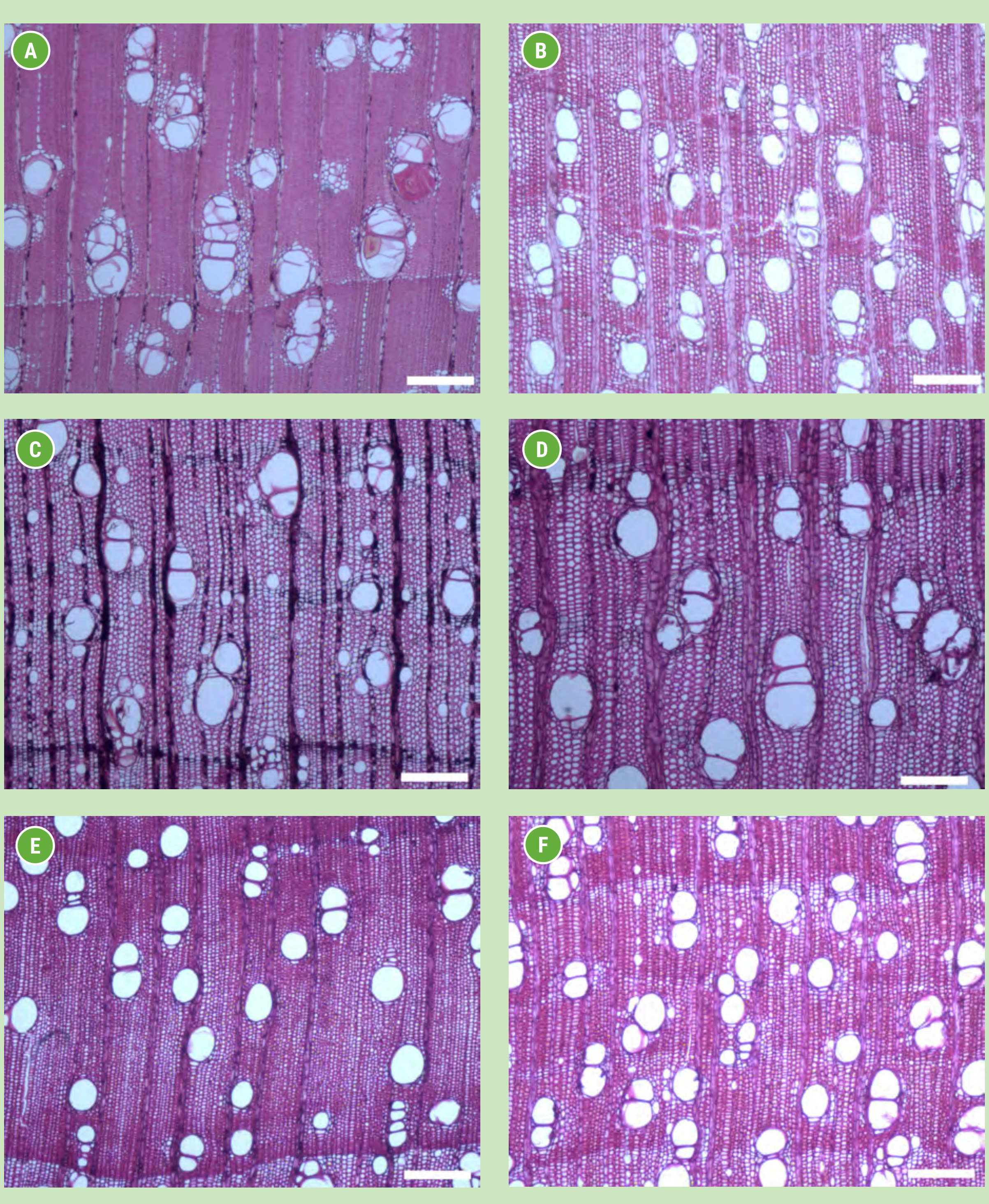
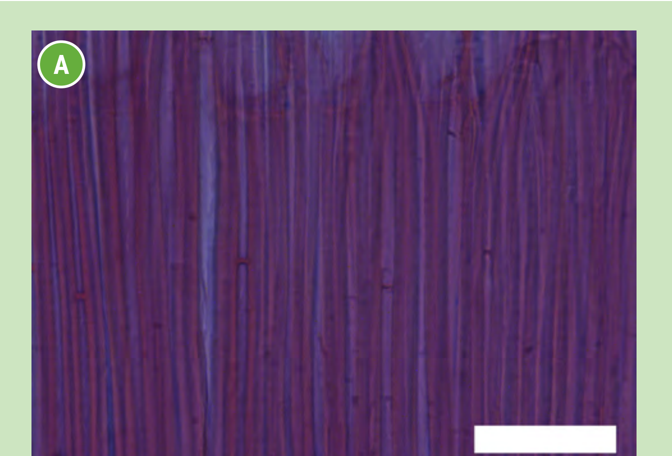
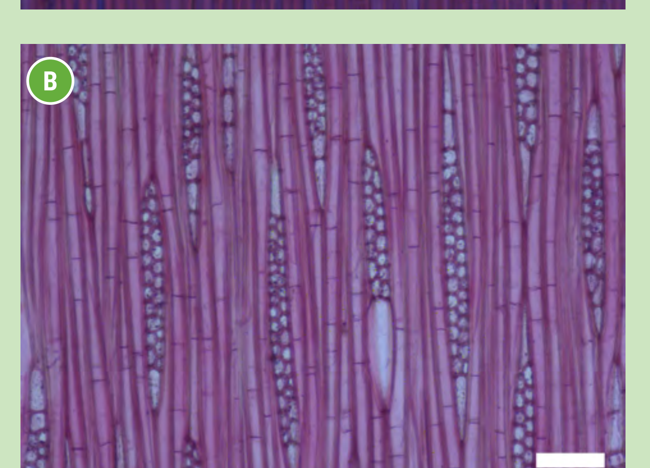


FIGURA 1. Parénquima marginal en [A] *Aniba canelilla*, [B] *A. robusta*, [C] *Beilschmiedia pendula*, [D] *B. sulcata*, [E] *B.tovarensis* y [F] *Cinnamomum triplinerve* (Barra = 300 µm).





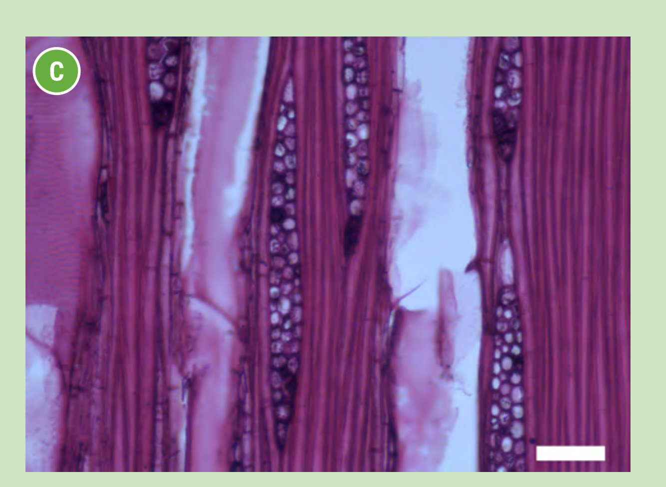
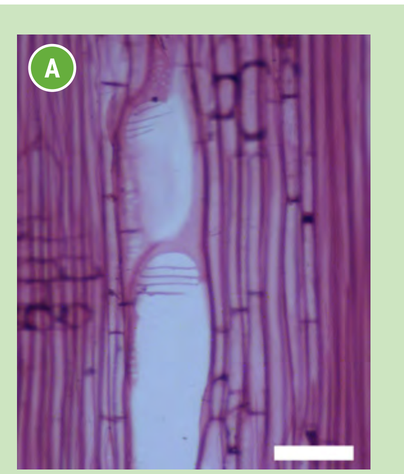
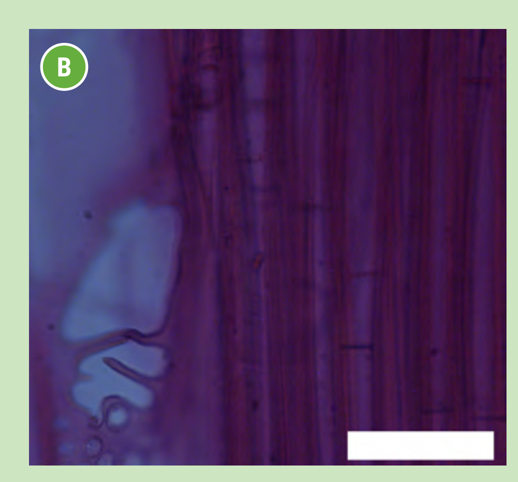


FIGURA 2. Fibras septadas en [A] *Aniba canelilla* (Barra = 50 µm), [B] *A. robusta* (Barra = 100 µm), [C] *Beilschmiedia tovarensis* (Barra = 100 µm).





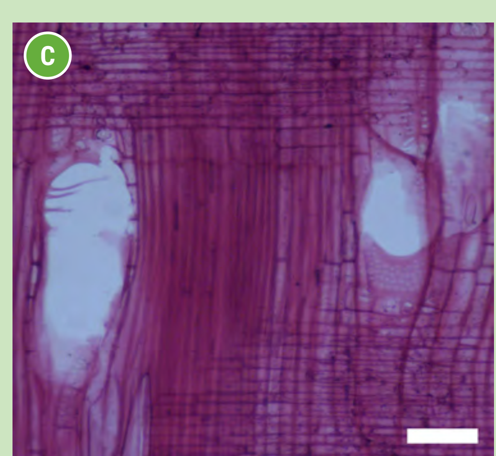


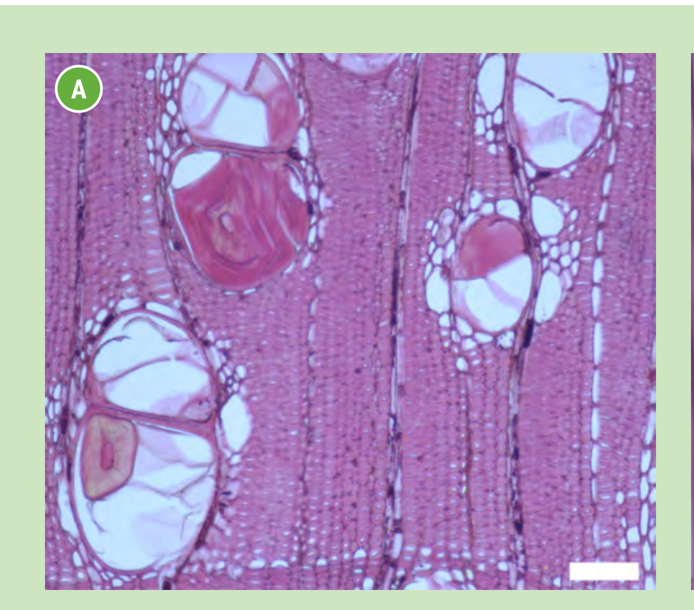
FIGURA 3. Placas de perforación escalariformes en [A] *Beilschmiedia mexicana* (Barra = 100 µm), [B] *B. tovarensis* (Barra = 50 µm), [C] *Cinnamomum triplinerve* (Barra = 100 µm).

CLAVE PARA ESPECIES DEL GÉNERO ANIBA

1a.Placas de perforación exclusivamente simples, fibras de paredes muy gruesas, vasos con tílides y esclerotílides .... *A. canelilla*

b.Placas de perforación predominantemente simples combinadas con escalariformes, fibras de paredes medianas a gruesas, vasos con tílides .... *A. robusta*

Las características utilizadas como elemento de separación entre las dos especies estudiadas de *Aniba* ***(FIGURA 4)*** concuerdan con lo indicado por otros autores: en cuanto a grosor de paredes de las fibras, Richter (1981) y León (2014) señalan a *A. canelilla* como una especie con fibras de paredes muy gruesas y de placas de perforación simples, mientras que Richter (1981) y Parra (2009) indican que *A. robusta* desarrolla fibras de paredes medianas a gruesas, pero no mencionan la presencia de placas escalariformes para esta última especie. A nivel del género, hay algunos reportes de placas múltiples en *Aniba* tal como lo indican Urbinati *et al.* (2014) en *A. hostmanniana*, León & Espinoza (2001) en *A. robusta* y Kribs (1968) para *A. duckei* y *A. rosaeodora*. Sin embargo, los caracteres más confiables para la separación de las dos especies estudiadas son los relacionados con grosor de paredes de las fibras y la presencia de esclerotílides ***(FIGURA 4)*** debido a que no todos los individuos de *A. robusta* presentan las placas múltiples.



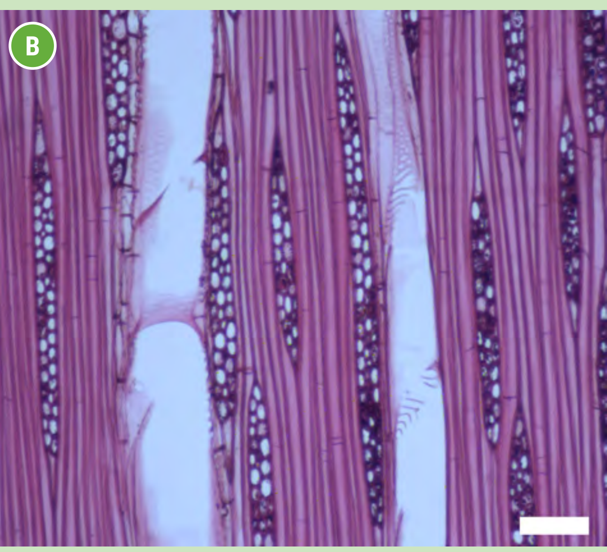


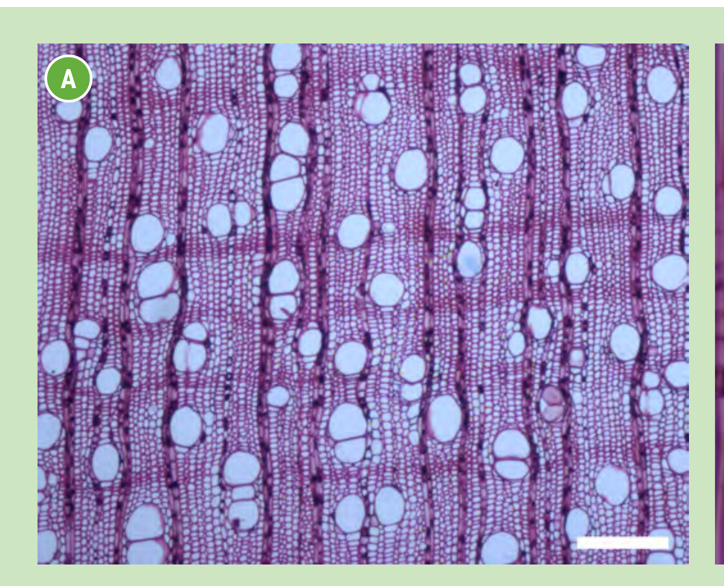
FIGURA 4. [A] *Aniba canelilla*: poros con esclerotílides, fibras de paredes muy gruesas (Barra = 100 µm), [B] *A. robusta*: placas de perforación escalariformes (Barra = 100 µm).

CLAVE PARA ESPECIES DEL GÉNERO BEILSCHMIEDIA

1a.Parénquima marginal presente 2
b.Parénquima marginal ausente ... *B. mexicana*
2a.Fibras exclusivamente no septadas, placas de perforación exclusivamente simples 3
b.Fibras septadas presentes; placas de perforación simples y escalariformes .... *B. tovarensis*
3a.Parénquima fusiforme presente; radios predominantemente de 3-4 células de ancho .... *B. latifolia*
b.Parénquima exclusivamente en series; radios predominatemente de 1-2 células de ancho .... *B. pendula*

Con respecto a *Beilschmiedia* es necesario indicar que muchos autores lo presentan como un género en el que la presencia de parénquima marginal *(FIGURAS 1C, 1D, 1E)* y la ausencia de fibras septadas son caracteres de valor para separarlo de otros géneros de Lauraceae, pero Purkayastha (1985), Rancusi *et al.* (1987) y León & Espinoza (2000b) mencionan especies del género donde no se encontró este tipo de parénquima, tal como se observa en *B. mexicana* *(FIGURA 5A)*.

Cinnamomum triplinerve presenta notables similitudes con algunas especies de *Beilschmiedia*, especialmente en lo relacionado con la presencia de parénquima marginal *(FIGURA 1F)* combinada con la ausencia de fibras septadas; pero la presencia de placas escalariformes *(FIGURA 3C)* permite separarla de las dos especies de *Beilschmiendia* con las que guarda mayor similitud: *B. latifolia* y *B. pendula*.



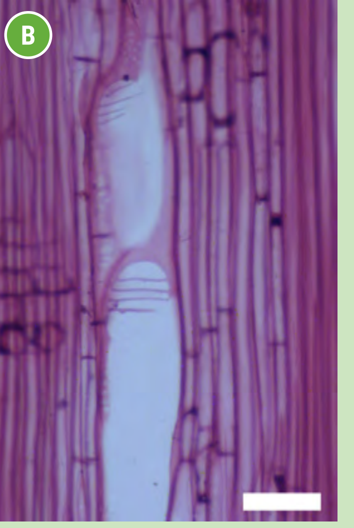


FIGURA 5. [A] *Beilschmiedia mexicana*: anillos definidos por reducción de diámetro radial de las fibras (Barra = 300 µm), [B] *B. mexicana*: placas de perforación múltiples (Barra = 100 µm).

GRUPO II: ESPECIES SIN PARÉNQUIMA MARGINAL

El grupo más amplio corresponde a especies que no desarrollan parénquima marginal e incluye el 82,86 % de las especies estudiadas, las cuales se ubican en los géneros *Beilschmiedia*, *Licaria*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Persea* y *Pleurothyrium*. Dentro de este grupo se puede establecer una separación entre las especies con parénquima exclusivamente en series (*Beilschmiedia mexicana*, *Licaria triandra*, *Nectandra* spp., *Ocotea* spp.) y las especies donde se combina parénquima fusiforme y en series (*Persea ferruginea*, *Pleurothyrium trianae*).

Clave para especies de los géneros *Nectandra* y *Ocotea*

1a.Placas de perforación escalariformes presentes 2
b.Placas de perforación exclusivamente simples 7
2a.Células oleíferas ausentes 3
b.Células oleíferas presentes 4
3a.Parénquima exclusivamente paratraqueal escaso, vasicéntrico delgado.......... *O. calophylla*
b.Parénquima partraqueal escaso, vasicéntrico delgado, aliforme de ala corta .... *N. laurel*
4a.Radios heterocelulares con una ruta de células marginales combinados con algunos homocelulares de células procumbentes .... *N. globosa*
b.Radios exclusivamente heterocelulares 5
5a.Punteaduras intervasculares con diámetro promedio inferior a 10 µm .... *O. fendleri*
b. Punteaduras intervasculares con diámetro promedio superior a 11 µm 6
6a.Parénquima exclusivamente paratraqueal escaso, vasicéntrico delgado .... *O. karsteniana*
b.Parénquima paratraqueal aliforme de ala corta y ocasionalmente confluente presente ... . *N. hihua, N. reticulata*
7a.Cristales pequeños en células parenquimáticas radiales 8
b.Cristales ausentes 12
8a.Fibras de paredes muy delgadas a delgadas .... *O. puberula*
b.Fibras de paredes medianas a gruesas, ocasionalmente delgadas 9
9a.Parénquima paratraqueal aliforme de ala corta presente 10
b.Parénquima exclusivamente paratraqueal escaso y vasicéntrico delgado ..... *O. caracasana*
10a.Radios con altura promedio inferior a 500 µm .... *O. bofo*
b.Radios con altura promedio mayor de 500 µm 11
11a.Poros con diámetro promedio inferior a 120 µm .... *O. cernua*
b. Poros con diámetro promedio superior a 120 µm .... *O. schomburgkiana*
12a.Células oleíferas presentes 13
b.Células oleíferas ausentes .... *N. turbacensis*
13a.Radios predominantemente biseriados .... *O. amazonica*
b.Radios predominantemente de 2-3 células de ancho 14
14a.Parénquima exclusivamente paratraqueal escaso, vasicéntrico delgado 15
b.Parénquima paratraqueal aliforme de ala corta presente, algunas veces confluente 22
15a.Radios heterocelulares con una ruta de células 16

b.Radios heterocelulares con 1 (-3) rutas de células 19
16a.Anillos de crecimiento definidos; radios con altura promedio menor de 550 µm 17
b.Anillos de crecimiento no definidos; radios con altura promedio mayor de 700 µm .... *O. oblonga*
17a.Fibras de paredes medianas a gruesas .... *N. barttletiana*
b.Fibras de paredes delgadas a medianas 18
18a.Poros/mm² ≤ 15; radios/mm ≤ 5 radios/mm .... *O aurantiodora*
b. Poros/mm² ≥ 15; radios/mm ≥ 5 radios/mm .... *O. longifolia*
19a.Células oleíferas abundantes, generalmente más de 2,5 por mm² .... *O. odorata*
b.Células oleíferas escasas, algunas veces ausentes, generalmente menos de 1-1,5 por mm² 20
20a.Punteaduras intervasculares con diámetro promedio mayor de 13 µm .... *O. macropoda*
b.Punteaduras intervasculares con diámetro promedio menor de 12 µm 21
21a.Fibras de paredes medianas a gruesas .... *O. floribunda*
b.Fibras predominantemente de paredes delgadas, ocasionalmente medianas a gruesas .... *O. guianensis*
22a.Radios de 2-4 (-5) células de ancho .... *O. cymbarum*
b.Radios de (1-) 2-3 células de ancho 23
23a.Parénquima paratraqueal unilateral presente .... *O. aciphylla*
b.Parénquima paratraqueal unilateral ausente .... *O. javitensis*

Anatómicamente, los géneros *Nectandra* y *Ocotea* guardan notables similitudes entre sí y no es posible separarlos con base a su estructura xilemática y por esa razón se presenta una sola clave donde se incluyen las especies de ambos géneros. Los criterios que se pueden utilizar para separar en grupos las especies dentro de cada género, por ejemplo tipo de placa de perforación y presencia de células oleíferas, son aplicables para ambos géneros. La única diferencia que se observó fue la presencia de cristales en cinco especies de *Ocotea*, mientras que en *Nectandra* no se encontró este tipo de sustancia mineral en ninguna de las especies estudiadas; sin embargo, León & Espinoza (2001) señalan que algunas especies de *Nectandra* pueden presentar cristales pequeños en las células parenquimáticas radiales. Analizando de manera independiente cada género, las especies de *Nectandra* se pueden clasificar en dos grupos con base a la presencia de células oleíferas: el primero corresponde a la presencia de este tipo de estructura secretora y está representado por *N. bartlettiana*, *N. globosa* (**FIGURA 6A**), *N. hihua* (**FIGURA 6B**), *N. reticulata;* mientras que el segundo grupo no presenta células oleíferas e incluye el 33,33 % de las especies incluidas en el presente estudio (*N. laurel*, *N. turbacensis*). Richter (1987) señala que una de las principales características de la familia Lauraceae es la presencia de células oleíferas en forma de idioblastos. Sin embargo, hay reportes que indican la ausencia de estas células en especies de este grupo taxonómico y para el género *Nectandra*, se pueden mencionar *N. concinna* (León & Espinoza 2001), *N. coriacea* (León & Espinoza 2001), *N. grandis*



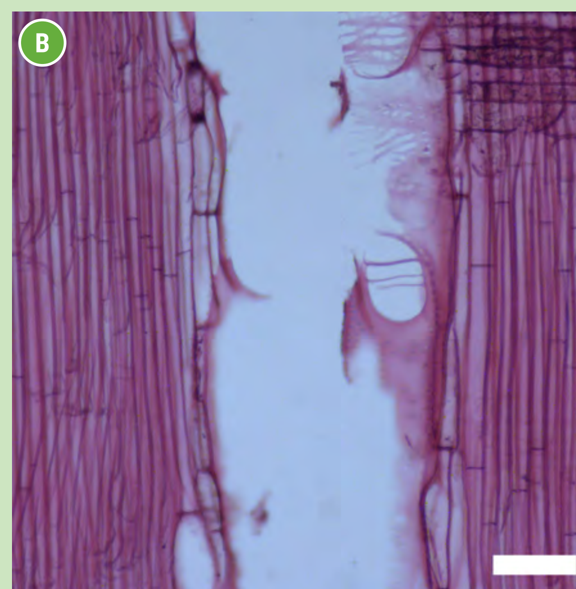


FIGURA 6. Células oleíferas y placas de perforación escalariformes en **[A]** *Nectandra globosa* y **[B]** *N. hihua* (Barra = 100 µm).

(León & Espinoza 2001), *N. laurel* (Parra 2009, León 2014), *N. leucantha* (Oliveira *et al.* 2001), *N. rigida* (Mainieri & Peres 1989, Oliveira *et al.* 2001). Con respecto a las placas de perforación, comúnmente las Lauraceae presentan placas simples y en algunas especies se combinan con escalariforme (Richter 1987). Entre las especies estudiadas fue más común la presencia de placas escalariformes (66,67 % de las especies estudiadas) en comparación con las exclusivamente simples (33,33 %). La presencia de placas escalariformes para especies del género *Nectandra* ha sido reportada para *N. acutifola* (León & Espinoza 2001), *N. amazonum* (León & Espinoza 2001), *N. cissiflora* (León & Espinoza 2001), *N. concinna* (León & Espinoza 2001), *N. falcifolia* (Tortorelli 2009), *N. globosa* (Kribs 1968, León & Espinoza 2001), *N. grandis* (Détienne *et al.* 1982), *N. hihua* (León & Espinoza 2001), *N. laurel* (Parra 2009, León 2014, León & Espinoza 2001), *N. leucantha* (Oliveira *et al.* 2001), *N. pichurim* (León & Espinoza 2001), *N. pisi* (Détienne *et al.* 1982), *N. puberula* (Oliveira *et al.* 2001), *N. reticulata* (León & Espinoza 2001), *N. rigida* (Oliveira *et al.* 2001), *N. saligna* (Tortorelli 2009), *N. sanguinea* (Kribs 1968, Aguilar-Alcántara *et al.* 2014), *N. surinamensis* (León & Espinoza 2001).

Con respecto a las 19 especies de *Ocotea* incluidas en el presente estudio se pueden establecer dos grupos: el primero corresponde a especies con placas de perforación escalariformes, aun cuando predominan las simples. Este grupo incluye tres especies (15,79 % del total)

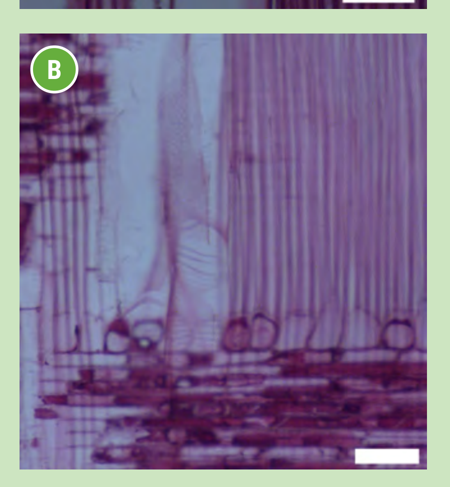



FIGURA 7. Placas de perforación escalariforme en [A] *Ocotea calophylla*, [B] *O. fendleri*, [C] *O. karsteniana* (Barra = 100 µm).

(*FIGURA 7*): *O. calophylla*, *O. fendleri* y *O. karsteniana*. Richter (1987) señala que el género *Ocotea* se caracteriza por presentar placas de perforación exclusivamente simples y sólo un número reducido de especies desarrolla placas escalariformes. Algunas especies donde se ha reportado la presencia de este tipo de placas de perforación son *O. aciphylla* (León 2000), *O. acutangula* (León 2000), *O. adenotrachelium* (León 2000), *O. babosa* (León 2000), *O. calophylla* (Pérez 1993, León 2000), *O. catharinensis* (León 2000), *O. dominicana* (León 2001), *O. fendleri* (León 2001), *O. glaucina* (León 2001), *O. karsteniana* (León 2001), *O. porosa* (Mainieri & Peres 1989), *O. usambarensis* (Kribs 1968), *O. veraguensis* (León 2001). Se debe mencionar que Pérez (1993) y Parra (2009) indican la presencia de placas escalariformes en *O. macropoda.* Sin embargo, el material descrito en el presente estudio sólo presentó placas simples en los diferentes individuos estudiados. Por otra parte, Grande & Polanco (2007) señalan que en *O. calophylla* sólo presentan placas de perforación simples, observación que no coincide con lo hallado en el presente estudio y lo reportado por Pérez (1993) y León (2000). En esta última especie, una característica importante es la ausencia de células oleíferas, siendo la única especie estudiada de este género que no presentó este tipo de estructura secretora, coincide con lo reportado por Pérez (1993) y León (2001). El grupo de especies con placas de perforación exclusivamente simples (84,21 % de las especies estudiadas de *Ocotea*) puede dividirse en dos subgrupos en función de la presencia de cristales y cinco especies (26,32 % del género; 31,25 % de las especies con placas simples)presentaron pequeños cristales isodiamétricos, fusiformes y alargados en las células parenquimáticas radiales: *O. bofo*, *O. caracasana*, *O. cernua*, *O. puberula* y *O. schomburgkiana* (*FIGURA 8*). León (2001) reportó la presencia de cristales en *O. dominicana*, *O. floribunda*, *O. froesii*, *O. puberula* y *O. veraguensis*. Igualmente, León (2000) indica que en *O. barcellensis*, *O. bofo*, *O. canaliculata*, *O. caracasana*, *O. caudata*, *O. cernua*, *O. compactiflora* y *O. corymbosa* se desarrollan pequeños cristales en las células de los radios. Es importante indicar que en el presente estudio no se observaron cristales en *O. barcellensis*, lo cual contrasta con lo reportado por León (2000) para esa especie, quien señala que de cuatro individuos estudiados sólo encontró cristales en uno de ellos, el cual había sido colectado en Brasil. Con relación a *O. floribunda*, León (2001) reporta la presencia de cristales en muestras colectadas en Guyana

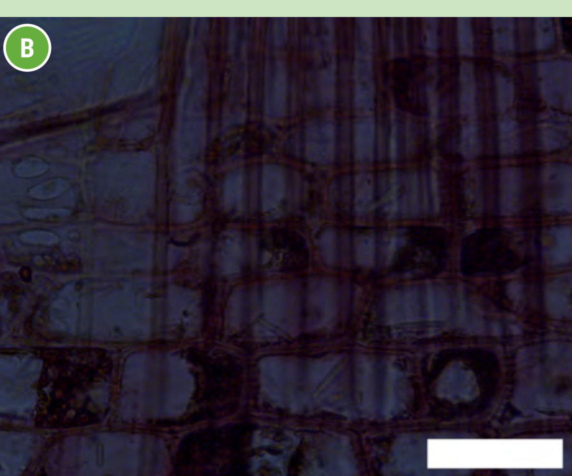
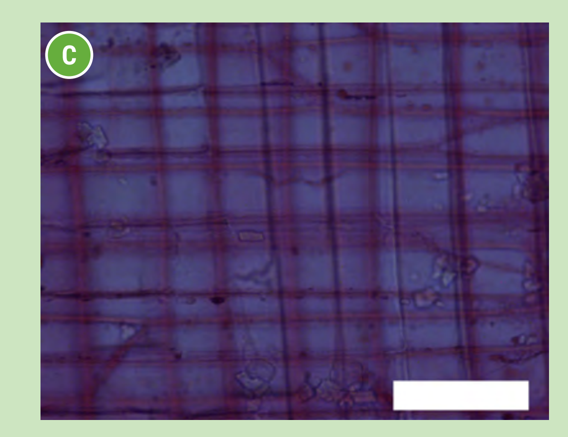
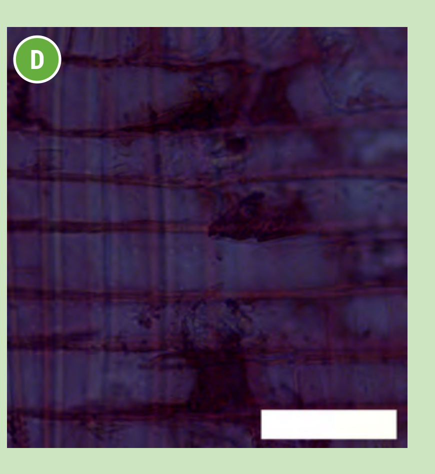





FIGURA 8. Cristales en células parenquimáticas radiales de [A] *Ocotea caracasana*, [B] *O. cernua*, [C] *O. puberula*, [A] *O. schomburgkiana* (Barra = 50 µm).

y Ecuador, observación que no coincide con lo encontrado en el presente estudio y lo indicado por Parra (2009).

Tras la agrupación con base al tipo de placa de perforación y la presencia de cristales, se utilizaron caracteres cuantitativos y para ello se tomó en consideración los resultados arrojados por la prueba de Tukey (α = 0,01) con el fin de hacer usos de aquellos caracteres que mostraron diferencias significativas entre las especies a separar.

En relación a *Persea* **(FIGURA 9A)** y *Pleurothyrium* **(FIGURA 9B)**, guardan notables semejanzas con las especies del género *Ocotea* y *Nectandra*, pero se pueden diferenciar por la presencia de parénquima fusiforme; mientras que *Licara triandra* se separa del resto de especies del Grupo II (parénquima marginal ausente) por ser la única que desarrolló fibras de paredes muy gruesas. Tomando en consideración la dificultad taxonómica que caracteriza a la familia Lauraceae, la anatomía de maderas puede constituir una herramienta valiosa en el momento de determinación de especies. A pesar que es un grupo presenta una gran homogeneidad, el uso de caracteres cuantitativos puede ofrecer alternativas viables para el diagnóstico. Por esta razón es recomendable ahondar en el uso de anatomía cuantitativa incorporando, para estudios posteriores, un mayor número de especies e incrementar el número de individuos por especie para garantizar una mayor validez de los resultados.

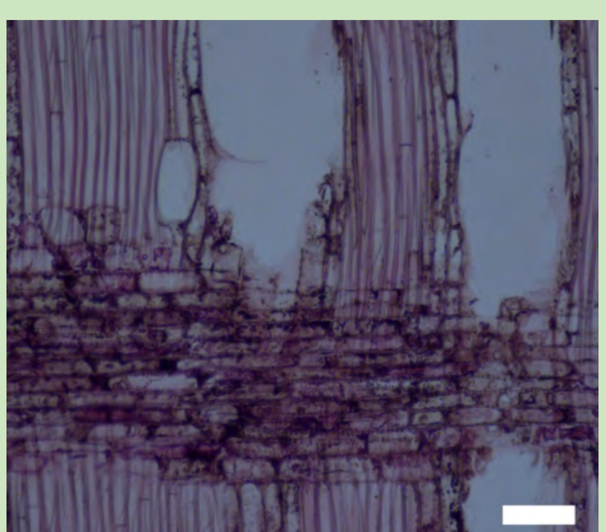




FIGURA 9. Células oleíferas en [A] *Persea ferruginea* y [B] *Pleurothyrium trianae* (Barra = 100 µm).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR-ALCÁNTARA, M., S. AGUILAR RODRÍGUEZ & T. TERRAZAS. 2014. Anatomía de la madera de doce especies de un bosque mesófilo de montaña de Tamaulipas, México. *Madera y Bosques* 20 (3): 69-86.

ANDIANTO, W., I. WAHYUDI, T. WALUYO, R. DUNGANI, A. HADIYANE & M. FIKRI HERNANDI. 2015. Wood anatomical from Indonesian Genus *Cinnamomum* (Lauraceae) and their identification key. *Asian Journal of Plant Sciences* 14: 11-19.

APG. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.

CALLADO, C. & C. COSTA. 1997. Wood anatomy of some *Anaueria* and *Beilschmiedia* species (Lauraceae). *IAWA Journal* 8: 247-259.

DADSWELL, H. & S. RECORD. 1936. Identification of woods with conspicuous rays. *Tropical Woods* 48: 1-30.

DÉTIENNE, P., P. JACQUET & A. MARIAUX. 1982. *Manuel d´Identification des bois tropicaux*. Centre Technique Forestier Tropical. Tome 3. Marne, Francia. 315 pp.

FRANCO, M. 2012. Maderas fósiles de Lauraceae de la Formación Ituzaingó (Plioceno-Pleistoceno), cuenca del río Paraná, Argentina. *Revista del Museo Argentno de Ciencias Naturales* 14: 307-324.

GRANDE, D. & C. POLANCO. 2007. Descripción anatómica de la madera de cuarenta especies del bosque alto-andino en Guasca, Cundinamarca. *Colombia Forestal* 10: 180-206.

HOKCHE, O., P. BERRY & O. HUBER. 2008. *Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas. 859 pp.

IAWA COMMITTEE. 1989. IAWA List of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bulletin n.s.* 10: 219-332.

KRIBS, D. 1968. *Commercial foreign woods in the american market*. Dover Publications Inc. New York. 241 pp.

LEÓN H., W. 2000. Anatomía del leño de 17 especies del género *Ocotea* Aublet (Lauraceae). *Pittieria* 29/30: 53-65.

LEÓN H., W. 2001. Anatomía de la madera de 15 especies del género *Ocotea* Aublet (Lauraceae). *Acta Botánica Venezuelica* 24: 13-36

LEÓN H., W. 2014. Anatomía de maderas de 108 especies de Venezuela. *Pittieria*. Serie Publicaciones Especiales PE1. 263 pp.

LEÓN H., W. & N. ESPINOZA DE PERNÍA. 2000a. Estudio anatómico del leño de ocho especies del género *Aniba* Aublet (Lauraceae). *Revista Forestal Venezolana* 44: 37-46.

LEÓN H., W. & N. ESPINOZA DE PERNÍA. 2000b. Estudio anatómico del leño de siete especies del género *Beilschmiedia* Nees (Lauraceae). *Revista Forestal Venezolana* 44: 47-56.

LEÓN H., W. & N. ESPINOZA DE PERNÍA. 2001. Estudio anatómico del leño de 18 especies del género *Nectandra* Rol. ex Rottb. (Lauraceae). *Revista Forestal Venezolana* 45: 33-44.

MAINIERI, C. & J. PERES. 1989. *Fichas de características das madeiras brasileiras*. Instituto de Pesquisas Tecnológicas. Divisao de Madeiras. Sao Paulo. 418 pp.

METCALFE, C. & L. CHALK. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons. Vol. II.* Clarendon Press. Oxford. 806 pp.

NISHIDA, S. 1999. Revision of Beilschmiedia (Lauraceae) in the Neotropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86: 657-701.

OLIVEIRA, C. DE, C. CALLADO & O. MARQUETE. 2001. Anatomia do lenho de espécies do género *Nectandra* Rol. ex Rottb. (Lauraceae). Rodriguesia 52 (81): 125-134.

PARRA, J. 2009. Anatomía del leño e identificación de siete especies de Laurales en San Eusebio (Mérida, Venezuela). *Pittieria* 33: 63-81.

PÉREZ M., A. 1993. Anatomía e identificación de 40 maderas del bosque La Mucuy, estado Mérida. *Pittieria* 20: 5-78.

PURKAYASTHA, S.K. 1985. *Indian woods. Their identification, properties and uses. Volume IV. Myrtaceae to Symplocaceae, Volume V. Oleaceae to Santalaceae.* Printed by the Manager, Government of India Press, NASIK-422 006, and published by the Controller of Publications, Delhi-110 045.

RANCUSI, M. H., M. NISHIDA & H. NISHIDA. 1987. Xylotomy of the important Chilean woods. Pp 68-153 + 66 plates in M. Nishida (ed) *Contributions to the Botany in the Andes II*. Academia Scientific Book Inc. Tokyo.

RECORD, S. & R. HESS. 1949. *Timbers of the New World*. Yale University Press. New Haven. 640 pp.

RICHTER, G. 1981. Wood and bark anatomy of Lauraceae I: *Aniba* Aublet. *IAWA Bulletin n.s.* 2: 79-87.

RICHTER, G. 1985. Wood and bark anatomy of Lauraceae II: *Licaria* Aublet. *IAWA Bulletin n.s.* 6: 187-199.

RICHTER, G. 1987. Lauraceae: Mature secondary xylem. En C. Metcalfe (ed.) *Anatomy of the Dicotyledons Vol. III*: 167-171. Oxford Science Publications. Oxford.

RICHTER, G. 1990. Wood and bark anatomy of Lauraceae III: *Aspidostemon* Rohwer & Richter. *IAWA Bulletin n.s.* 11: 47-56.

RICHTER, G. & A. VAN WYK. 1990. Wood and bark anatomy of Lauraceae IV: *Dahlgrenodendron* J.J.M. van der Merwe & van Wyk. *IAWA Bulletin n.s.* 11: 173-182.

STERN, W. 1954. Comparative anatomy of xylem and phyllogeny of Lauraceae. *Tropical Woods* 100: 1-73.

SINGH, M., M. SHARMA & C. SHARMA. 2015. Wood anatomy of some members of family Lauraceae with reference to their identification. *Journal of the Indian Academy of Wood Science* 12: 137-144. DOI: 10.1007/s13196-015-0157-z

SUN, J., J. WU, X. WANG, J. GU & Z. GAO. 2015. Comparative wood anatomy of 56 species of Lauraceae from Yunnan, China. *Brazilian Journal of Botany* 38: 645-656. DOI 10.1007/s40415-015-0172-8.

TAKTHAJAN, A.1980. Outline of the classification of the flowering plants (Magnoliophyta). *Botanical Review* 46: 226-359.

TORTORELLI, L. 2009. *Madera y Bosques Argentinos. Tomo I*. Orientación Gráfica Editora SRL. 2da edición. Buenos Aires. 515 pp.

URBINATI, C., R. RIBEIRO DA SILVA, S. SAMPAIO DA SILVA, P. BRAGA & F. AKIRA. 2014. Structure of the secondary xylem of *Aniba* Aubl. species from the Brazilian Amazon. *Acta Botanica Brasilica* 28: 484-488. DOI: 10.1590/0102-33062014abb2952

VEILLON, J. P. 1994. *Especies forestales autóctonas de los bosques naturales de Venezuela*. Instituto Forestal Latinoamericano. 2da ed. Mérida, Venezuela. 226 pp.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
41
ENERO-DICIEMBRE 2017
págs. 102—137

ESPECIES DE LIANAS DE LA ZONA CENTRAL DE LA RESERVA FORESTAL IMATACA, ESTADO BOLÍVAR, VENEZUELA

SPECIES OF LIANAS CENTRAL OF THE ZONE OF THE FOREST RESERVE IMATACA, BOLÍVAR, VENEZUELA

por

CLEMENTE DE J. HERNÁNDEZ PEÑA[1]
JOSÉ RAFAEL LOZADA[2]

1 Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Escuela de Ingeniería Forestal. Departamento de Botánica y Ciencias Básicas. Laboratorio de Botánica Sistemática. Mérida, Venezuela.
clemente@ula.ve

2 Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Forestal (INDEFOR). Grupo de Investigación Manejo Múltiples de Ecosistemas Forestales (GIMEFOR). Mérida, Venezuela.
jlozada@ula.ve

RECIBIDO: febrero 01 de 2015 / **ACEPTADO:** octubre 15 de 2015

RESUMEN

El objetivo de este estudio florístico es la determinación de especies de lianas en diferentes comunidades vegetales ubicadas en el sector central de la Reserva Forestal Imataca como información básica de futuros planes de ordenación. Se recolectaron especímenes en parcelas de estudio y en recorridos efectuados entre éstas. Los ejemplares botánicos recolectados fueron fotografiados, procesados, y determinados; se elaboró un listado de especies, clave de familia y especies utilizando caracteres vegetativos. Se reportan 25 familias, 37 géneros y 44 especies. Las familias Bignoniaceae, Leguminosae y Dilleniaceae representan el 12 % de las florísticamente dominantes, las cuales agrupan el 45,5 % de las especies.

PALABRAS CLAVE: lianas, estudio florístico, determinación, florísticamente dominantes.

ABSTRACT

The objective of this study is to determine floristic species of lianas in different plant communities in the central sector of the Imataca Forest Reserve as basic information for future ordination plans. Specimens were collected in study plots and journeys made between them. The botanical specimens collected were photographed, processed, and determined; a list of species, family and key species using vegetative characters was developed. 25 families, 37 genera and 44 species are reported. The Bignoniaceae, Leguminosae and Dilleniaceae families represent 12% of the dominant floristically, which grouped 45.5% of the species.

KEY WORDS: lianas, floristic study, determination, floristically dominant.

INTRODUCCIÓN

La Reserva Forestal Imataca es un extenso territorio con gran diversidad florística de comunidades boscosas productoras de maderas comerciales, comprende una extensión boscosa de 3.800.000 ha, con aproximadamente 2.292 especies de plantas vasculares; valores que representan el 63,8 % de las familias de Venezuela, el 36,4 % de los géneros y el 14,9 % de las especies (MARN-CIERFI-ULA, 2000). Estos ecosistemas están influenciados por elementos naturales y antrópicos que alteran su estabilidad; al respecto, Aymard (2011), expone como la explotación desmedida de los recursos forestales, ha generado la amenaza de extinción de elementos de la flora destacando la necesidad de estudios de la composición florística. Gentry (1986), citado en Camaripano & Castillo (2004), señala que la gran diversidad florística de lianas en el Neotrópico se debe a que éstas tienen su centro de distribución en la Amazonia y en los bosques de tierras bajas de la Guayana; por su parte, Aristeguieta (1953), señala que las trepadoras son características de selvas húmedas, meso y macrotérmicas de las regiones tropicales, con requerimientos de sitios húmedos con temperaturas medias a altas, son la expresión de las magníficas condiciones ambientales de las regiones tropicales de donde se desarrollan. Rollet (1971), identificó algunas comunidades dominadas por lianas y las relacionó con perturbaciones generadas por huracanes. Por su parte, Lozada *et al.* (2011) apoyan la tesis de la presencia de bosques de lianas como producto de una perturbación. Díaz *et al.* (2010), en su estudio de la composición florística del bosque ribereño del río San José, señalan que en claros abiertos por la caída de los árboles, donde el sotobosque se hace denso, abundan las lianas, principalmente ***Bauhinia guianensis***, aunque también especies pertenecientes a las familias Dilleniaceae, Bignoniaceae y Fabaceae, y en sectores de bosque sin muchos claros, las lianas también estaban presentes, principalmente aquellas pertenecientes a las familias Caesalpiniaceae y Bignoniaceae. Gentry (1982), señala la importancia de las lianas y árboles en la diversidad de los bosques tropicales. Rollet (1971), en estudios de regeneración realizados en la Guayana Venezolana, señala a las lianas como el segundo tipo biológico en orden de importancia después de los árboles. Hernández (1992, 1997), en la Reserva Forestal Caparo, indicó que la relación de la regeneración de las lianas fue mayor respecto a cada una de las otras formas de vida y con el total. Por otra parte, los trabajos realizados por Giammarresi (l989), en la Unidad I de la Reserva Forestal Caparo sobre formas de vida, reportó que de 14 formas de vida encontradas, el 12 % correspondió a las lianas, coincidiendo con Camaripano & Castillo (2004), quienes muestran en un 12 % las especies de trepadoras del Igapó del río Sipapo, estado Amazonas. Hernández (2003), reporta para el área de la Reserva Forestal Caparo las Bignoniaceae y Papilionaceae como las familias con mayor número de géneros. Hernández *et al.* (2007), en la Reserva Forestal Imataca hallaron cinco familias dominantes: Bignoniaceae, Fabaceae, Menispermaceae, Dilleniaceae y Sapindaceae. Fedón & Castillo (2005, 2009), presentan una lista de 109 especies de trepadoras de los bosques ribereños de los ríos Cuao, Sipapo y Orinoco en el estado Amazonas, pertenecientes a 28 familias y 68 géneros, siendo Bignoniaceae, Fabaceae, Hippocrateaceae, Malpighiaceae y Apocynaceae las familias que agruparon el mayor número de especies.

El presente trabajo, con ilustraciones fotográficas de cada espécimen en verde, aporta una lista de especies y claves para las familias y especies, basadas en caracteres vegetativos, como herramienta para la determinación de los taxa de esta forma de vida, a modo de aporte para el conocimiento florístico de estos bosques en futuros planes de manejo o restauración de áreas degradadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La RFI cubre una superficie de 3.822.000 ha (MARN-UCV, 2003) y está ubicada al oeste de Venezuela, entre las coordenadas 06º00' y 08º 30' ¿N y 59º 50'O. Los sitios evaluados pertenecen a la Unidad C4, ubicada en el sector central de la reserva *(FIGURA 1)*. De acuerdo con los mapas de isoyetas e isotermas (MARN-UCV, 2003) se estima que la precipitación anual del área de estudio está cercana a 1.700 mm y la temperatura media anual es de 26 °C. Aunque está fuera de la RFI, la estación climática de Tumeremo muestra que existen máximos de precipitación en diciembre, en el período mayo-agosto y que no hay déficit hídrico en todo el año. La fisiografía es penillanura suave o medianamente ondulada con pequeños valles en las zonas más bajas. Por otra parte, más del 80 % de la RFI posee cobertura boscosa (MARN-UCV, 2003). De acuerdo al sistema de Holdridge (Ewel *et al.*, 1976), el área de estudio pertenece al bosque húmedo tropical y desde el punto de vista fisionómico y estructural son bosques altos y siempreverdes (Huber 1995).

El presente estudio florístico se realizó en el marco del proyecto «Sucesión vegetal en bosques aprovechados de la Reserva Forestal Imataca», Lozada (2008). Se realizaron recorridos terrestres, en áreas no intervenidas para detectar las zonas con mayor variabilidad ecológica. Se trazaron dos picas de interpretación ecológica. Se utilizaron parcelas de 100 x 100 m (1 ha), con subdivisiones para la toma de muestras y datos. De cada espécimen se recolectaron muestras botánicas y secciones de tallo; se tomaron anotaciones de campo como secreción, nombre vulgar y ubicación exacta; además de fotografías de las muestras botánicas en verde. Este material fue preservado, empaquetado y enviado hasta el laboratorio de Botánica Sistemática, al herbario MER y a la xiloteca MERw de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de los Andes, donde fue posteriormente determinado utilizando equipo óptico, literatura especializada (Austin 1982; Acevedo-Rodríguez 2003; Berry, P. E., B.K.Holst & Yaskievych (eds.). 1995-2005; Duno, S., G. Aymard, O. Hubber (eds.) 2007; Gentry 1977a; Gentry 1977b), confrontación con material botánico y consulta con especialistas de los herbarios MER, MERF y PORT. Las descripciones se realizaron con las anotaciones de campo y con las observaciones realizadas en el laboratorio. Las familias se presentan ordenadas alfabéticamente con sus respectivos géneros y especies. Se elaboró una clave paralela para las 25 familias y tres subfamilias de lianas, de acuerdo al criterio taxonómico utilizado y, en caso de haber más

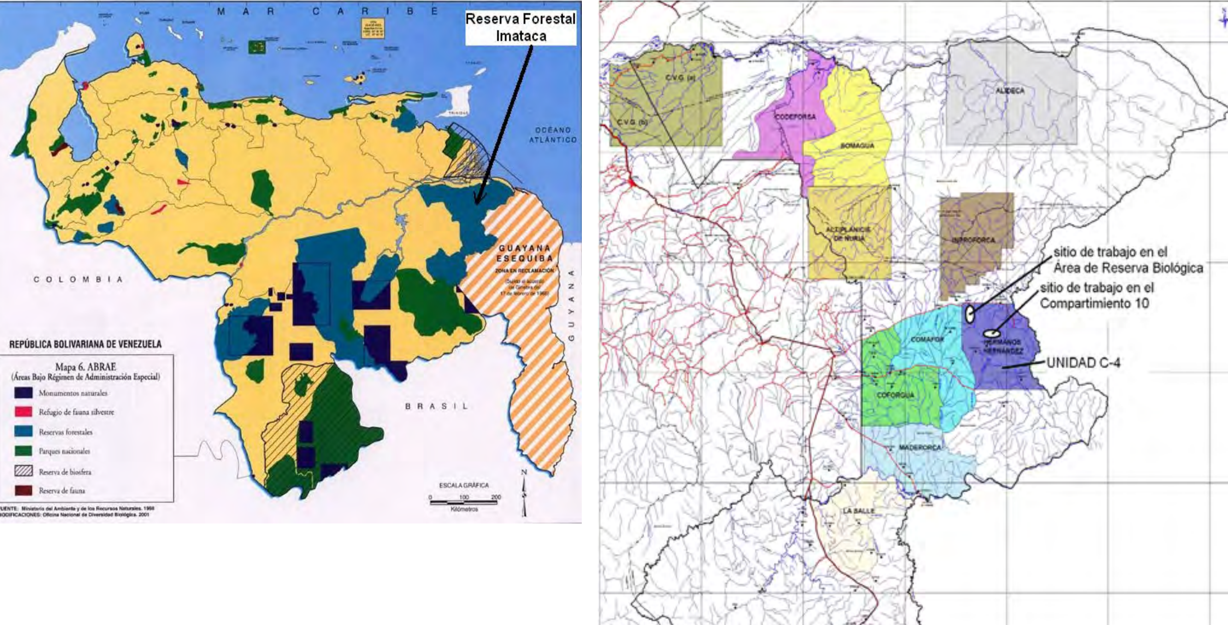


FIGURA 1. Ubicación de la Reserva Forestal Imataca. Área de estudio (adaptado de MARNR, 1998 y MARN-UCV, 2003).

de un género por familia o especie por género, se suministra una clave para su diferenciación; adicionalmente, se elaboró una clave general para las 44 especies. Se presenta para cada especie su respectiva ilustración fotográfica en fresco; además, se indica el nombre común y sinonimia.

El grupo de las leguminosas se consideró, taxonómicamente, dentro de la familia Leguminosae con las subfamilias Caesalpinoideae, Mimosoideae y Papilionoideae (Lewis *et al.* 2005); el género *Celtis* se ubicó en la familia Cannabaceae y la actualización de los nombres científicos se realizó utilizando la base de datos virtual «The Plant List (2010)».

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La lista de especies muestra los nombres científicos y su número de accesión en el herbario MER y xiloteca MERw; en tres de los casos, no se registra respaldo de herbario de espécimen botánico, ya que a pesar de haberse recolectado y trabajado con la muestra botánica, éstas presentaban un estado de deterioro tal, que imposibilitó su accesión al herbario. Se registraron 52 de especímenes pertenecientes a 25 familias, 37 géneros y 44 especies. Las familias Bignoniaceae, Leguminosae y Dilleniaceae, que representan el 12% de las familias, resultaron florísticamente dominantes agrupando el 45,5 % de las especies; Bignoniaceae y Leguminosae, cada una con cinco géneros (13,5%) y siete especies (15,9%), y Dilleniaceae con dos géneros (5,4%) y tres especies (6,8%) *(CUADRO 1)*. La clave general de especies se presenta en el *CUADRO 2*.

CUADRO 1. Lianas de la zona central de la Reserva Forestal Imataca, estado Bolívar, Venezuela

FAMILIA	ESPECIE	Nº COLECCIÓN[1]	Nº MER	Nº MERW
Apocynaceae	*Forsteronia gracilis*	259	54418	-
Apocynaceae	*Forsteronia guyanensis*	193	54371	X6616
Araceae	*Heteropsis flexuosa*	261	54372	X6617
Araceae	*Philodendron acutatum*	284	54404	-
Arecaceae	*Desmoncus orthacanthos*	235	54419, 54420	-
Bignoniaceae	*Bignonia corymbosa*	192a, 285	54411, 54413	-
Bignoniaceae	*Bignonia hyacinthina*	243	54376	X6621
Bignoniaceae	*Bignonia sordida*	238, 260	54421, 54375	X6620
Bignoniaceae	*Dolichandra uncata*	223	54374	X6619
Bignoniaceae	*Mansoa hymenaea*	216	54373	X6618
Bignoniaceae	*Pachyptera kerere*	233	54412	-
Bignoniaceae	*Xylophragma seemannianum*	192b	54377	X6622
Cannabaceae	*Celtis iguanaea*	247	54401	X6643
Celastraceae	*Hylenaea comosa*	280	54388	X6633
Clusiaceae	*Clusia* sp.	182	-	-
Connaraceae	*Cnestidium rufescens*	289	54380	X6625
Convolvulaceae	*Ipomoea phyllomega*	226	54415	-
Convolvulaceae	*Maripa paniculada*	212	54381	X6626
Cyclanthaceae	*Thoracocarpus bissectus*	270	54382	X6627
Dilleniaceae	*Davilla kunthii*	279	54383	X6628
Dilleniaceae	*Davilla rugosa* var. *rugosa*	114	54405	-
Dilleniaceae	*Tetracera volubilis* subsp. *volubilis*	221	54384	X6629
Leguminosae	*Acacia articulata*	277, 163	54407, 54408	-
Leguminosae	*Acacia tenuifolia*	214, 241	54390, 54391	X6635, X6636
Leguminosae	*Bauhinia guianensis*	107	05414	-
Leguminosae	*Bauhinia scala-simiae*	194	54379	X6624
Leguminosae	*Machaerium macrophyllum*	206, 250	54385, 54386	X6630, X6631
Leguminosae	*Mucuna urens*	213	54387	X6632
Leguminosae	*Senna nitida*	245	54378	X6623
Malpighiaceae	*Lophopterys euryptera*	204	-	-
Malpighiaceae	*Stigmaphyllon adenodon*	286	-	-
Marcgraviaceae	*Norantea guianensis* subsp. *japurensis*	282	54389	X6634
Menispermaceae	*Curarea candicans*	211	54409	-
Phytolaccaceae	*Seguieria macrophylla*	291	54392	X6637
Piperaceae	*Piper hostmannianum*	129	54370	-
Polygalaceae	*Securidaca coriacea*	293	54410	-
Polygonaceae	*Coccoloba marginata*	283, 205	54393, 54394	X6638, X6639
Rhamnaceae	*Gouania lupuloides*	210	54395	X6640
Rubiaceae	*Uncaria guianensis*	199	54396	X6641
Sapindaceae	*Serjania atrolineata*	209, 246	54397, 54399	X6611, X6613
Sapindaceae	*Serjania pyramidata*	237	54398	X6612
Smilacaceae	*Smilax maypurensis*	207	54400	X6642
Verbenaceae	*Petrea volubilis*	220	54402	X6644
Vitaceae	*Cissus haematantha*	236	54403	X6645

Nº colección[1]: José Rafael Lozada. Nº MER: número de accesión herbario MER. Nº MERw: número de accesión xiloteca MERw

CUADRO 2. Clave de especies de lianas de la zona central de la Reserva Forestal Imataca, estado Bolívar, Venezuela

1	Plantas que trepan mediante zarcillos		2
1	Plantas que trepan mediante otros mecanismos de ascensión		13
2(1)	Hojas compuestas		3
2(1)	Hojas simples		12
3(2)	Filotaxis opuesta. Zarcillos originados de folíolo terminal		4
3(2)	Filotaxis alterna. Zarcillos con diferente origen al folíolo terminal		10
	Campo glandular interpeciolar presente. Reborde interpeciolar ausente		5
4(3)	Campo glandular interpeciolar ausente. Reborde interpeciolar presente o no		8
5(4)	Campo glandular presente en ápice de pecíolo y envés de la base de lámina foliolar		6
5(4)	Campo glandular ausente en ápice de pecíolo y envés de la base de lámina foliolar. Seudoestípulas en tres series ausentes		7
6(5)	Seudoestípulas en tres series, obtuso-cónicas	*Pachyptera kerere*	
6(5)	Seudoestípulas en una serie, laminares	*Mansoa hymenaea*	
7(5)	Hojas 2-folioladas, dimorfas, glabrescentes. Campo glandular interpeciolar inconspicuo. Zarcillos 3-fidos, uncinados	*Dolichandra uncata*	
7(5)	Hojas 3-folioladas, no dimorfas, con pelos dendroides. Zarcillos 1-fidos, no uncinados	*Xylophragma seemannian*	
8(4)	Zarcillo cortamente 3-fido. Seudo estípulas peruladas, acintadas o grueso foliáceas, con campos glandulares en su lámina	*Bignonia sordida*	
8(4)	Zarcillo 1-fido. Seudoestípulas seudofoliáceas, sin campos glandulares en su lámina		9
9(8)	Ramitas terminales tetragonales. Línea interpeciolar en forma de U invertida o recta. Zarcillo simple, agudo en el ápice	*Bignonia hyacinthina*	
9(8)	Ramitas terminales cilíndricas. Reborde interpeciolar inconspicuo o ausente. Zarcillo simple, de ápice lanceolado-ligulado, lígula con campos glandulares	*Bignonia corymbosa*	
10(3)	Raquis y/o pecíolo alargado, alado. Hoja, 2-ternadas. Zarcillo axilar en pares (bifurcados) en la porción basal de la inflorescencia. Exudado, si presente, laticífero. Tallo más o menos profundamente lobado o asurcado en sentido longitudinal		11
10(3)	Raquis puntiforme. Hojas ternadas. Zarcillos opositifolios, simples. Exudado savia acuosa. Tallo más o menos cilíndrico en sentido longitudinal	*Cissus haematantha*	
11(10)	Sección transversal del tallo con 8-10 cilindros vasculares periféricos dispuestos en círculo en torno al cilindro central; látex amarillo. Hojas sin expansiones laminares, pelosas en el raquis, pecíolo y vena media	Serjania pyramidata	
11(10)	Sección transversal del tallo con tres cilindros periféricos dispuestos en un triangulo en torno al cilindro central; látex ausente. Hojas con raquis y pecíolo provisto de expansiones laminares o no, glabras	*Serjania atrolineata*	
12(2)	Zarcillo en pares, originándose del pecíolo, en la unión de la vaina foliar (representan una prolongación de la vaina foliar). Tallo espinoso	*Smilax maypurensis*	
12(2)	Zarcillo simple de origen diferente, naciendo como una modificación de una rama axilar corta en la base de las inflorescencias. Tallo inerme	*Gouania lupuloides*	
13(1)	Hojas compuestas		14
13(1)	Hojas simples		22
14(13)	Estipulas ausentes. Hojas de más de 20 cm de largo, armadas, raquis con un alargado ápice filiforme	*Desmoncus orthacanthos*	
14(13)	Estipulas presentes. Hojas menores a 20 cm de largo, raquis sin un alargado ápice filiforme, inermes o armadas		15
15(14)	Hoja bipinnadas. Ramas jóvenes con aguijones retrorsos		16
15(14)	Hojas simples o bifolioladas a simplemente pinnadas o tri-folioladas		17
16(15)	Hojas con más de 20 pínnulas por raquis. Ramas jóvenes más o menos tetrangulares. Folíolos lineales, asimétricos, 0,6 cm de largo por 0,1 cm de ancho	*Acacia tenuifolia*	
16(15)	Hojas con menos de 10 pínnulas por raquis, usualmente 7. Ramas jóvenes notoriamente angulosas. Folíolos falcados, asimétricos, pelosos, glandulosos, 1 cm de largo por 0,4 cm de ancho	*Acacia articulata*	
17(15)	Folíolos dos pares, opuestos, paripinados, u hojas simples o bifolioladas		18
17(15)	Folíolos cinco, subopuestos, imparipinnados		20
18(17)	Hojas pinnadas, tetrafolioladas, glabras; pecíolos y raquis surcados, con una glándula estipitada linear entre cada par de folíolos. Arbusto sarmentoso o escandente de tallo cilíndrico, glabro, sin secreción al corte	*Senna nítida*	
18(17)	Hojas simples, enteras o hendidas hasta la base, o bifolioladas, glabras o pelosas; pecíolos no surcado, eglandulares. Trepadora de tallo plano, irregular, semejando los eslabones de una cadena, glabro o peloso, usualmente con secreción transparente al corte		19
19(18)	Hojas enteras, pelosas por el envés. Tallo peloso	*Bauhinia scala-simiae*	
19(18)	Hojas hendidas hasta la base, bifolioladas, glabras Tallo glabro	*Bauhinia guianensis*	
20(17)	Plantas inermes, que trepan mediante ramas laterales cortas, volubles a modo de zarcillos	*Cnestidium rufescens*	
20(17)	Plantas armadas, que trepan mediante espinas, ramas volubles con crecimiento indeterminado no formando estructura a modo de zarcillos		21
21(20)	Trepadora armada, espinas. Látex rojo presente. Hojas pinnadas, folíolos 6-7, obovado-elíptico a oval-elíptico; haz glabro o con pelos simples en la vena media, verde brillante; envés glabrescente o con abundantes pelos simples aplicados, en toda su superficie	*Machaerium macrophyllum*	
21(20)	Trepadora inerme, Látex ausente; secreción hialina, mucilaginosa, muy escasa al corte. Hoja 3-foliolada; folíolos oblongos, haz glabro, verde brillante, envés glabro, con diminutos pelos en la vena media	*Mucuna urens*	
22(13)	Filotaxis opuesta		23
22(13)	Filotaxis alterna		30
23(22)	Látex presente		24
23(22)	Látex ausente		27
24(23)	Plantas escandentes o estranguladoras, con látex amarillento. Hojas gruesas, coriáceas	*Clusia*	
24(23)	Plantas generalmente volubles, no estranguladoras, látex de otro color o no visible. Hojas cartáceas a membranáceas		25
25(24)	Látex rojo. Hojas sin domacios, eglandulares	*Hylenaea comosa*	
25(24)	Látex lechoso o acuoso. Hojas de lámina foliar con domacios y un par de glándulas hacia la parte inferior de la haz		26
26(25)	Hojas membranáceas; lámina foliar oval-oblonga con bárbulas en el envés, venación prominente; ápice cuspidado; base subcordada; pecíolo claramente diferenciado	*Forsteronia gracilis*	
26(25)	Hojas coriáceas; lámina foliar oval-lanceolada, con domacios y par de glándulas hacia la parte inferior de la haz; venación no prominente; ápice agudo-cortamente acuminado; base subredondeada-aguda; pecíolo como prolongación de la lámina foliar	*Forsteronia guyanensis*	
27(23)	Estípulas ausentes. Hojas escábridas	*Petrea volubilis*	
27(23)	Estípulas presentes. Hojas no escábridas		28
28(27)	Plantas inermes; con pelos mediifijos. Estípulas intrapeciolares o interpeciolares, de pequeñas a inconspicuas		29
28(27)	Plantas armadas, espinas curvas, axilares; sin pelos mediifijos. Estípulas interpeciolares notorias	*Uncaria guianensis*	
29(28)	Hojas opuestas a subopuestas, obovadas, eglandulares; haz verde oscuro, envés densa y profundamente plateado seríceo. Estípulas intrapeciolares	*Lophopterys euryptera*	
29(28)	Hojas opuestas de lámina entera o lobada, cordado-acuminadas, con par de glándulas en la base; verde en ambas caras, haz glabrescente con pelos mediifijos en las venas, envés densamente peloso con pelos mediifijos. Estípulas interpeciolares	*Stigmaphyllon adenodon*	

30(22)	Látex presente		31
30(22)	Látex ausente		34
31(30)	Plantas hemiepifíticas a escandentes con raíces adventicias. Ovadas a deltoides, cordadas a cuneadas		32
31(30)	Plantas volubles sin raíces adventicias. Hojas ovado-oblongo a oblongo-elíptico, base ligeramente cordada a redondeada		33
32(31)	Trepadora leñosa, flexible. Raíces adventicias muy largas. Látex no apreciado al momento del corte. Hojas ovado-acuminadas, base cuneada	*Heteropsis flexuosa*	
32(31)	Trepadora herbácea escandente. Raíces adventicia cortas, de soporte para la planta. Látex blanco que quema al contacto. Hojas deltoides, base cordada	*Philodendron acutatum*	
33(31)	Trepadora leñosa en la parte inferior, herbácea en la parte superior. Látex blanco. Hojas ovadas a ovado-oblongas, ápice acuminado, cordadas, basinervadas	*Ipomoea phyllomega*	
33(31)	Trepadora leñosa. Látex no apreciado al momento del corte. Hojas oblongo-elípticas, ápice acuminado, base ligeramente cordada a redondeada, penninervada	*Maripa paniculata*	
34(30)	Plantas que trepan mediante raíces adventicias. Hojas flabeliformes	*Thoracocarpus bissectus*	
34(30)	Plantas que trepan de diferentes formas, volubles o sarmentosas. Hojas no flabeliformes		35
35(34)	Nudos visiblemente engrosados. Estipulas involucrales, con cicatriz estipular conspicua. Planta aromática	*Piper hostmannianum*	
35(34)	Nudos no visiblemente engrosados. Estípulas en ócrea, ausentes o inconspicuas con o sin cicatriz estipular. Planta no aromática		36
36(35)	Estípulas en ócrea	*Coccoloba marginata*	
36(35)	Estípulas ausentes, o si presentes no en ócrea e inconspicuas		37
37(36)	Planta armada		38
37(36)	Planta inerme		39
38(37)	Planta trepando mediante ramas laterales cortas con espinas recurvadas; tallo no fistuloso. Hojas de venación basal	*Celtis iguanaea*	
38(37)	Planta trepando mediante ramas volubles o erectas, o lianas escandentes; un par de espinas rectas en la base de cada pecíolo; tallo fistuloso. Hojas de venación peninervada	*Seguieria macrophylla*	
39(37)	Pecíolo con dos glándulas (nudos usualmente glandulares)	*Securidaca coriacea*	
39(37)	Pecíolo eglandular		40
40(39)	Tallos con corteza lisa, amarillenta a rojiza, desprendiéndose en bandas. Hojas ásperas al tacto		41
40(39)	Tallos con corteza no lisa ni amarillenta a rojiza, sin desprendimiento en bandas. Hojas suaves al tacto		43
41(40)	Trepadora escabrosa (áspera al tacto), procesos tricomatosos estrellado-equinulados en toda la superficie de la muestra. Sin secreción o poco notoria al corte. Hojas ovales 10-18 cm de largo por 4-6 cm de ancho; borde aserrado	*Tetracera volubilis*	
41(40)	Trepadora no escabrosa, pelosas, sin procesos tricomatosos estrellado-equinulados en su superficie. Lámina foliar estrechamente prolongada hacia el pecíolo. Notable secreción hialina (como agua) al corte		42
42(41)	Pelos simples, conspicuamente ferrugíneos. Hojas de 12-24 cm de largo por 3-7,5 cm de ancho, abundantemente, peloso-ferrugíneos por ambas caras, lámina foliar oval-lanceolada; borde sinuoso-denticulado	*Davilla rugosa*	
42(41)	Pelos simples nunca ferrugíneos. Hojas de 10-11 cm de largo por 4-5 cm de ancho, pelosas por el envés, en la haz en la vena media y venas secundarias, más abundante hacia la base; lámina foliar oblongo-espatulado; borde sinuado	*Davilla kunthii*	
43(40)	Filotaxis espiralada; estipuladas. Lamina foliar coriácea, oblonga, de venación peninervada, vena central prominente, con dos glándulas basales; ápice mucronado	*Norantea guianensis*	
43(40)	Filotaxis alterna; exestipuladas. Lamina foliar membranosa, de venación basal, vena central y secundarias prominentes, eglandulares; ápice agudo-acuminado.	*Curarea candicans*	

CLAVE DE FAMILIAS LIANAS DE LA ZONA CENTRAL DE LA RESERVA FORESTAL IMATACA, ESTADO BOLÍVAR, VENEZUELA

1 Plantas que trepan mediante zarcillos 2

1 Plantas que trepan mediante otros mecanismos de ascensión 6

2(1) Hojas compuestas 3

2(1) Hojas simples 5

3(2) Filotaxis opuesta. Zarcillos originados de foliolo terminal .... *Bignoniaceae*

3(2) Filotaxis alterna. Zarcillos con diferente origen al folíolo terminal 4

4(3) Raquis y/o pecíolo alargado, alado. Hoja, 2-ternadas. Zarcillo axilar en pares (bifurcados) en la porción basal de la inflorescencia. Exudado, si presente, laticífero. Tallo más o menos profundamente lobado o asurcado en sentido longitudinal .... *Sapindaceae*

4(3) Raquis puntiforme. Hojas ternadas. Zarcillos opositifolios, simples. Exudado savia acuosa. Tallo más o menos cilíndrico en sentido longitudinal .... *Vitaceae*

5(2) Zarcillo en pares, originándose del pecíolo, en la unión de la vaina foliar (representan una prolongación de la vaina foliar). Tallo armado .... *Smilacaceae*

5(2) Zarcillo simple de origen diferente, naciendo como una modificación de una rama axilar corta, en la base de las inflorescencias. Tallo inerme .... *Rhamnaceae*

6(1) Hojas compuestas 7

6(1) Hojas simples 11

7(6) Estipulas ausentes. Hojas de más de 20 cm de largo, armadas, raquis con un alargado ápice filiforme .... *Arecaceae*

7(6) Estipulas presentes. Hojas menores a 20 cm de largo, inermes o armadas 8

8(7) Hojas bipinnadas .... *Mimosoideae*

8(7) Hojas simples o bifolioladas a simplemente pinnadas o tri-folioladas 9

9(8) Folíolos tetrámeros, dos pares opuestos; pecíolos y raquis surcados, con una glándula estipitada, linear entre cada par de folíolos u hojas simples o bifolioladas .... *Caesalpinoideae*

9(8) Folíolos cinco, subopuestos, imparipinnados; pecíolos y raquis cilíndricos, eglandulares 10

10(9) Plantas armadas, que trepan mediante espinas, ramas volubles, con crecimiento indeterminado no formando estructura a modo de zarcillos. Látex rojo presente ..... *Papilionoideae*

10(9) Plantas inermes, que trepan mediante ramas laterales cortas, volubles a modo de zarcillos. Látex rojo ausente .... *Connaraceae*

11(6) Filotaxis opuesta 12

11(6) Filotaxis alterna 17

12(11) Látex presente 13

12(11) Látex ausente 15

13(12) Plantas estranguladoras o escandentes, con látex amarillento. Hojas grueso-coriáceas ... . *Clusiaceae*

13(12) Plantas no estranguladoras, generalmente volubles, con látex lechoso, acuoso poco notorio o rojo. Hojas cartáceo-subcoriaceas a membranosas 14

14(13) Hojas membranáceas; lámina foliar con domacios y un par de glándulas hacia la parte inferior de la haz. Látex, si presente, blanco .... *Apocynaceae*

14(13) Hojas cartáceo-subcoriaceas, lámina foliar eglandular. Látex rojo .... *Celastraceae*

15(12) Estípulas ausentes. Hojas escábridas .... *Verbenaceae*

15(12) Estípulas presentes. Hojas no escábridas 16

16(15) Plantas inermes con pelos mediifijos. Estípulas intrapeciolares o interpeciolares .... *Malpighiaceae*
16(15) Plantas armadas, espinas curvas axilares, sin pelos mediifijos. Estípulas interpeciolares .... *Rubiaceae*
17(11) Látex presente 18
17(11) Látex ausente 19
18(17) Plantas hemiepifíticas a escandentes con raíces adventicias. Ovadas a deltoides, cordadas a cuneadas .... *Araceae*
18(17) Plantas volubles sin raíces adventicias. Hojas ovado-oblongo a oblongo-elíptico, base ligeramente cordada a redondeada ..... *Convolvulaceae*
19(17) Plantas que trepan mediante raíces adventicias. Hojas flabeliformes ..... *Cyclanthaceae*
19(17) Plantas que trepan de diferentes formas, volubles o sarmentosas. Hojas no flabeliformes 20
20(19) Nudos visiblemente engrosados. Estipulas involucrales, con cicatriz estipular conspicua. Planta aromática .... *Piperaceae*
20(19) Nudos no visiblemente engrosados. Estípulas en ocrea, ausentes o inconspicuas con o sin cicatriz estipular. Planta no aromática 21
21(20) Estípulas en ocrea .... *Polygonaceae*
21(20) Estípulas ausentes, o si presentes no en ocrea e inconspicuas 22
22(21) Planta armada 23
22(21) Planta inerme 24
23(22) Planta trepando mediante ramas laterales cortas con espinas recurvadas; tallo no fistuloso. Hojas de venación basal .... *Cannabaceae*
23(22) Planta trepando mediante ramas volubles o erectas, o lianas escandentes; un par de espinas rectas en la base de cada pecíolo; tallo fistuloso. Hojas de venación penninervia .... *Phytolaccaceae*
24(22) Pecíolo con dos glándulas (nudos usualmente glandulares) .... *Polygalaceae*
24(22) Pecíolo eglandular 25
25(24) Tallos con corteza lisa, amarillenta a rojiza, desprendiéndose en bandas. Hojas ásperas al tacto .... *Dilleniaceae*
25(24) Tallos con corteza no lisa ni amarillenta a rojiza, sin desprendimiento en bandas. Hojas suaves al tacto 26
26(25) Filotaxis espiralada, estipuladas. Lamina foliar coriácea, oblonga, de venación penninervia, vena central prominente, con dos glándulas basales; ápice mucronado .... *Marcgraviaceae*
26(25) Filotaxis alterna, exestipuladas. Lamina foliar membranosa, de venación basal, vena central y secundarias prominentes, eglandulares; ápice agudo-acuminado ... *Menispermaceae*

TAXA DE LIANAS DE LA ZONA CENTRAL DE LA RESERVA FORESTAL IMATACA, ESTADO BOLÍVAR, VENEZUELA

APOCYNACEAE

Forsteronia gracilis (Benth.) Müll.Arg., Fl. Bras. 6(1): 101 1860. **FIG. 2A.**
Bejuco sapo.
Thyrsanthus gracilis Benth.

Forsteronia guyanensis Müll.Arg., Linnaea 30: 414 1860. **FIG. 2B.**
Bejuco lechero, bejuco sapo.
Thyrsanthus guyanensis (Müll.Arg.) Miers
1 Hojas membranáceas; lámina foliar oval-oblonga con bárbulas en el envés, venación prominente; ápice cuspidado; base subcordada; pecíolo claramente diferenciado .... *Forsteronia gracilis*



FIGURA 2A. *Forsteronia gracilis*



FIGURA 2B. *Forsteronia guyanensis*

1 Hojas coriáceas; lámina foliar oval-lanceolada, con domacios y par de glándulas hacia la parte inferior de la haz; venación no prominente; ápice agudo-cortamente acuminado base subredondeada-aguda; pecíolo como prolongación de la lámina foliar .. *Forsteronia guyanensis*

ARACEAE

Heteropsis flexuosa (Kunth) G.S.Bunting, Revista Fac. Agric. Univ. Centr. Venezuela 10: 201 1979. **FIG. 3.**
Bejuco alambrito.
Anthurium flexuosum Kunth, *Heteropsis jenmanii* Oliv., *Pothos flexuosus* Kunth.

Philodendron acutatum Schott, Syn. Aroid. 94. 1856. **FIG. 4.**
Bejuco picatón.
Philodendron cyclops A.D. Hawkes, *Philodendron guaraense* E. G. Gönc. *Philodendron quinquenervium* Miq.

1 Trepadora leñosa, flexible. Raíces adventicias muy largas. Látex no apreciado al momento del corte. Hojas ovado-acuminadas, base cuneada .. .. *Heteropsis flexuosa*
1 Trepadora herbácea escandente. Raíces adventicias cortas, de soporte para la planta. Látex blanco que quema al contacto. Hojas deltoides,




FIGURA 3. *Heteropsis flexuosa*



FIGURA 4. *Philodendron acutatum*

base cordada .... *Philodendron acutatum*
Ambas especies presentan raíces adventicias; en el caso de *Heteropsis flexuosa*, éstas son largas y flexibles y usadas como amarre.

ARECACEAE

Desmoncus orthacanthos Mart., Hist. Nat. Palm. 2: 87 1824. **FIG. 5.**
Camoare.
Atitara ataxacantha (Barb.Rodr.) Kuntze, *A. chinantlensis* (Liebm. ex Mart.) Kuntze, *A. cuyabaensis* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr., *A. drudeana* Kuntze, *A. horrida* (Splitg. ex Mart.)



FIGURA 5. *Desmoncus orthacanthos*

Kuntze, *A. lophacantha* (Mart.) Barb.Rodr., *A. macrocarpa* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr., *A. major* (Crueg. ex Griseb.) Kuntze, *A. orthacantha* (Mart.) Kuntze, *A. orthacantha* (Mart.) Barb. Rodr., *A. palustris* (Trail) Kuntze, *A. prostrata* (Lindm.) Barb.Rodr., *A. rudenta* (Mart.) Barb. Rodr., *Desmoncus angustisectus* Burret, *D. apureanus* L.H.Bailey, *D. ataxacanthus* Barb. Rodr., *D. brittonii* L.H.Bailey, *D. cuyabaensis* Barb.Rodr., *D. demeraranus* L.H.Bailey & H.E. Moon, *D. hartii* L.H.Bailey, *D. horridus* Splitg. ex Mart., *D. huebneri* Burret, *D. kuhlmannii* Burret, *D. leptochaete* Burret, *D. longifolius* Mart., *D. lophacanthos* Mart., *D. luetzelburgii* Burret, *D. macrocarpus* Barb.Rodr., *D. major* Crueg. ex Griseb., *D. melanacanthos* Mart. ex Drude, *D. multijugus* Steyerm., *D. myriacanthos* Dugand, *D. orthacanthos* var. *mitis* Drude, *D. orthacanthos* var. *trailianus* Drude, *D. palustris* Trail, *D. prostratus* Lindm., *D. rudentum* Mart., *D. tobagonis* L.H.Bailey, *D. velezii* L.H.Bailey, *D. werdermannii* Burret
Trepadora voluble, armada. Hoja de más de un metro de largo, raquis con un alargado ápice filiforme rematando en espinas retrorsas.

BIGNONIACEAE

Bignonia corymbosa (Vent.) L.G.Lohmann, Nuevo Cat. Fl. Vasc. Venezuela 272. 2008. **FIG. 6A.**
Bejuco barqui.
Bignonia coito Vell., *B. corymbosa* (Vent.) L. Lohmann, *Macfadyena amazonica* Miers, *M. bangii* Rusby, *M. coito* (Vell.) Miers, *M. corymbosa* (Vent.) Griseb., *M. corymbosa* (Vent.) Miers, *M. laurifolia* (Kunth) Miers, *M. orinocensis* (Kunth) Miers, *M. ovata* Miers, *M. platypoda* (DC.) Miers, *M. riparia* S.Moore, *Phryganocydia coito* (Vell.) Warm., *P. coito* (Vell.) Bureau ex Baill., *P. coito* var. *platypoda* (DC.) Bureau, *P. corymbosa* (Vent.) Bureau ex K.Schum., *P. dipleuropus* Mart. ex DC., *P. orinocensis* (Kunth) Schnee, *Phrygiobureaua corymbosa* (Vent.) Kuntze, *Spathodea coito* (Vell.) DC., *S. corymbosa* Vent., *S. laurifolia* Kunth, *S. orinocensis* Kunth, *S. platypoda* DC.

Bignonia hyacinthina (Standl.) L.G.Lohmann, Nuevo Cat. Fl. Vasc. Venezuela 272. 2008. **FIG. 6B.**
Bejuco cuatro filos.
Bignonia hyacinthina (Standl.) L. Lohmann, *B. prieurei* DC. ex Seem., *Mussatia hyacinthina* (Standl.) Sandwith, *Tynanthus hyacinthinus* Standl.

Bignonia sordida (Bureau & K.Schum.) L.G.Lohmann, Nuevo Cat. Fl. Vasc. Venezuela 272. 2008. **FIG. 6C.**
Bejuco barqui negro, bejuco barqui blanco
Arrabidaea pullei Sprague, *A.sordida* Bureau & K.Schum., *Bignonia sordida* Klotzsch, *B. sordida* (Bureau & K. Schum.) L. Lohmann, *Roentgenia sordida* (Bureau & K.Schum.) Sprague & Sandwith.

Dolichandra uncata (Andrews) L.G.Lohmann, Nuevo Cat. Fl. Vasc. Venezuela 273. 2008. **FIG. 7.**
Bejuco uña de murciélago.
Bignonia pachyptera DC., *B. uncata* Andrews, *B. uncata* Sims, *B. uncinata* G. Mey., *Dolichandra fenzliana* Miq., *D. uncata* (Andrews) L. Lohmann, *Doxantha uncata* (Andrews) Miers, *Macfadyena fenzliana* (Miq.) Miq., *M. guatemalensis*

FIGURA 6A. ***Bignonia corymbosa***



FIGURA 6B. ***Bignonia hyacinthina***



FIGURA 6C. ***Bignonia sordida***

S. F. Blake, *M. hassleri* Sprague, *M. hispida* (DC.) Seem., *M. mollis* (Sond.) Seem., *M. pubescens* S. Moore, *M. uncata* (Andrews) y Sprague Sandwith, *M. uncinata* (G. Mey.) DC., *M. undulata* K. Schum., *Pachyptera puberula* DC., *Spathodea fenzliana* (Miq.) Walp., *S. hispida* DC., *S. mollis* Sond., *S. uncata* (Andrews) Spreng., *S. uncinata* (G. Mey.) Spreng.

Mansoa hymenaea (DC.) A.H.Gentry, Ann. Missouri Bot. Gard. 66: 782 1979 publ. 1980. **FIG. 8.**
Bejuco cruz.
Adenocalymma alboviolaceum Loes., *A.ciliolatum* S.F.Blake., *A. hosmeca* Pittier, *A. laevigatum* Mart. ex DC., *A. laevigatum* Bureau & K.Schum., *A. macrocarpum* Donn.Sm., *A. pohlianum* Bureau & K.Schum., *Bignonia hymenaea* DC., *B. laevigata* Klotzsch ex Bureau & K.Schum., *Cuspidaria hymenaea* (DC.) M.R.Almeida, *Pachyptera hymenaea* (DC.) A.H.Gentry, *Petastoma langlasseanum* Kraenzl., *P. tonduzianum* Kraenzl., *Pseudocalymma alliaceum* var. *microcalyx* Sandwith, *P. hymenaeum* (DC.) Sandwith, *P. laevigatum* (Bureau & K.Schum.) A.Samp. & Kuhlm., *P. langlasseanum* (Kraenzl.) Sandwith, *P. macrocarpum* (Donn.Sm.) Sandwith, *P. pachypus* (Bureau & K.Schum.) Sandwith, *P. pohlianum* (Bureau & K.Schum.) Sandwith

Pachyptera kerere (Aubl.) Sandwith, Rec. Trav. Bot. Néerl. 34: 219. 1937. **FIG. 9.**
Bejuco ajo.
Adenocalymma brachybotrys DC., *A. foveolatum* (DC.) K.Schum., *A. foveolatum* (DC.) Baill., *A. kerere* (Aubl.) Bureau & K.Schum., *A. stridula* Miers, *A. symmetricum* Rusby, *Bignonia benensis* Britton ex Rusby, *B. heterophylla* Willd.,



FIGURA 7. ***Dolichandra uncata***



FIGURA 8. ***Mansoa hymenaea***



FIGURA 9. ***Pachyptera kerere***

B. kerere Aubl., *Macfadyena lepidota* Seem. ex Miers, *Mansoa kerere* (Aubl.) A.H.Gentry, *Pachyptera foveolata* DC., *Petastoma kerere* (Aubl.) Schnee, *Sererea heterophylla* Raf., *Tanaecium zetekii* Standl.

Xylophragma seemannianum (Kuntze) Sandwith, Kew Bull. 8: 469 1953 publ. 1954. FIG. 10.
Bejuco barqui.
Adenocalymma cocleense Pittier, *Distictis rovirosana* J.D.Sm., *Handroanthus floccosus* (Klotzsch) Mattos, *Saldanhaea seemanniana* Kuntze, *Tabebuia floccosa* (Klotzsch) Sprague & Sandwith, *Tecoma floccosa* Klotzsch, *T. floccosa* Klotzsch ex Bureau & K. Schum.

1 Campo glandular interpeciolar presente. Reborde interpeciolar ausente 2
1 Campo glandular interpeciolar ausente. Reborde interpeciolar presente o no 5
2(1) Campo glandular en ápice de pecíolo y envés de la base de lámina foliolar 3
2(1) Sin Campo glandular en ápice de pecíolo y envés de la base de lámina foliolar. Seudoestípulas en tres series ausentes 4
3(2) Seudoestípulas en tres series, obtuso-cónicas .... *Pachyptera kerere*
3(2) Seudoestípulas en una serie, laminares .... *Mansoa hymenaea*
4(2) Hojas 2-foliioladas, dimorfas, glabras. Campo glandular interpeciolar inconspicuo. Zarcillos 3-fidos, uncinados .... *Dolichandra uncata*
4(2) Hojas 3-folioladas, no dimorfas, con pelos dendroides. Zarcillos 1-fidos, no uncinados .... *Xylophragma seemannian*
5(1) Zarcillo cortamente 3-fido. Seudoestípulas peruladas, acintadas o grueso foliáceas, con campos granulares en su lámina ... *Bignonia sordida*
5(1) Zarcillo 1-fido. Seudoestípulas peruladas, foliáceas o grueso foliáceas 6
6(5) Ramitas terminales tetragonales. Línea interpeciolar en forma de U invertida o recta. Zarcillo simple, agudo en el ápice. Seudoestípulas foliáceas .... *Bignonia hyacinthina*
6(5) Ramitas terminales cilíndricas. Reborde interpeciolar inconspicuo o ausente. Zarcillo de ápice lanceolado-ligulado, lígula con campos glandulares. Seudoestípulas foliáceas .... *Bignonia corymbosa*

CANNABACEAE

Celtis iguanaea (Jacq.) Sarg., Silva 7: 64 1895. FIG. 11.
Bejuco uña de gavilán.
Celtidopsis citrifolia (Kunth) Priemer, *Celtis aculeata* Sw., *C. aculeata* var. *laevigata* (Kunth) Planch., *C. aculeata* var. *pubescens* Griseb., *C. aculeata* var. *serrata* Griseb., *C. anfractuosa* Liebm., *C. asperula* Miq., *C. biflora* Ruiz ex Miq., *C. brevifolia* (Klotzsch) Miq., *C. dichotoma* (Klotzsch) Ruiz ex Miq., *C. diffusa* Planch., *C. epiphylladena* Ortega, *C. eriantha* E.Mey. ex Planch., *C. gardneri* Planch., *C. glabrata* Spreng., *C. glycycarpa* Mart. ex Miq., *C. goudotii* Planch., *C. hilariana* Planch., *C. laevigata* (Kunth) Spreng. , *C. membranacea* (Wedd.) Miq., *C. morifolia* Planch., *C. pavonii* Planch., *C. platycaulis* Greenm., *C. pubescens* (Kunth) Spreng., *C. pubescens* var. *pubescens* , *C. rhamnoides* Willd., *C. spinosa* Ruiz ex Miq., *C. spinosissima* (Wedd.) Miq., *C. triflora* (Klotzsch) Ruiz ex Miq., *C. velutina* Planch., *C. williamsii* Rusby, *C. zizyphoides* (Kunth) Spreng., *Mertensia aculeata* (Sw.) Schult., *M. citrifolia* Kunth, *M. commutata* (Roem. & Schult.) Hemsl., *M. goudotii* Planch., *M. iguanea* (Jacq.) Schult., *M. laevigata* Kunth, *M. pubescens* Kunth, *M. rhamnoides* (Willd.) Schult., *M. zizyphoides* Kunth, *Momisia aculeata* (Sw.) Klotzsch, *M. alnifolia* Wedd., *M. anfractuosa* (Liebm.) Rose & Standl., *M. brevifolia* Klotzsch, *M. dichotoma* Klotzsch, *M. iguanaea* (Jacq.) Rose & Standl., *M. laevigata* (Kunth) F. Dietr., *M. membranacea* Wedd., *M. platycaulis* (Greenm.) Rose & Standl., *M. pubescens* (Kunth) F. Dietr., *M. spinosissima* Wedd., *M. tala* Planch., *M. tarijensis* Wedd., *M. triflora* Klotzsch, *M. zizyphoides* (Kunth) F. Dietr., *Rhamnus iguanaea* Jacq., *Saurobroma iguanense* Raf., *Ziziphus commutata* Roem. & Schult., *Z.iguanea* (Jacq.) Lam., *Z. iguanaea* (Jacq.) Lam.
Trepadora leñosa armada, ramas cortas no fistulosas, con espinas recurvadas.

CELASTRACEAE

Hylenaea comosa (Sw.) Miers, Trans. Linn. Soc. London 28(2): 367. 1872. FIG. 12.
Bejuco guasay.
Hippocratea comosa Sw., *H. crinita* Pittier, *Hylenaea capilliflora* Miers, *Salacia capillaeflora* Sagot ex Peyr.
Trepadora leñosa, látex rojo.




FIGURA 10. ***Xylophragma seemannianum***



FIGURA 11. ***Celtis iguanaea***

CLUSIACEAE

Clusia L., Species Plantarum 1: 509–510. 1753. (1 May 1753) *FIG. 13.*
Copei.
Planta con variadas fases de desarrollo, inicialmente epífita, luego liana y finalmente se torna en árbol independiente. Látex verde-amarillento.

CONNARACEAE

Cnestidium rufescens Planch., Linnaea 23: 440. 1850. *FIG. 14.*
Bejuco coloradito.
Robergia frutescens (Aubl.) J.F.Gmel., *Robergia frutescens* Willd., *Rourea cardonae* Lasser & Maguire, *R. frutescens* Aubl., *R. hondurensis* Donn.Sm., *R. induta* var. *concinna* Baker, *Santalodes frutescens* (Aubl.) Kuntze
Trepadora leñosa; ramas laterales flexibles a modo de zarcillos.

CONVOLVULACEAE

Ipomoea phyllomega House, Ann. New York Acad. Sci. 18: 246 246 1908. *FIG. 15.*
Bejuco batatillo.
Convolvulus philomega Vell., *Ipomoea capparoides* Choisy, *I. cardiosepala* Meisn., *I. demerariana* Choisy, *I. macrophylla* Choisy
Maripa paniculata Barb. Rodr., Vellosia (ed. 2) 1: 59, t. 16 59 1891. *FIG. 16.*
Bejuco blanco.



FIGURA 12. ***Hylenaea comosa***



FIGURA 13. ***Clusia*** sp.



FIGURA 14. ***Cnestidium rufescens***

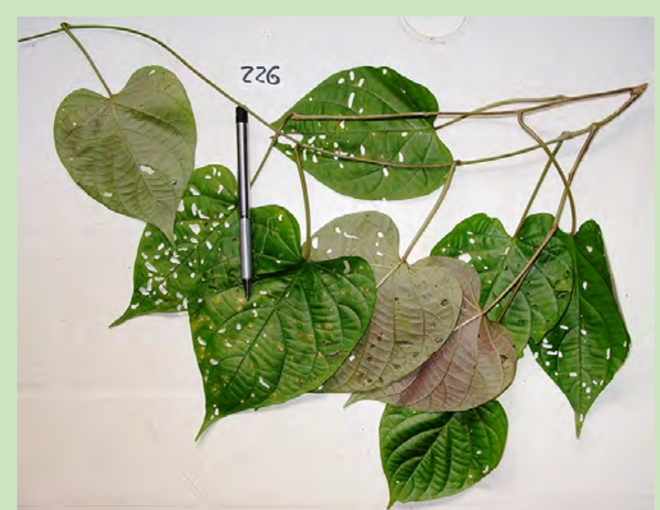


FIGURA 15. ***Ipomoea phyllomega***



FIGURA 16. ***Maripa paniculata***

1 Trepadora leñosa en la parte inferior, herbácea en la parte superior. Látex blanco. Hojas ovadas a ovado-oblongas, ápice acuminado, cordadas, basinervadas ..... *Ipomoea phyllomega*
1 Trepadora leñosa. Látex no apreciado al momento del corte. Hojas oblongo-elípticas, ápice acuminado, base ligeramente cordada a redondeada, penninervias .... *Maripa paniculata*

CYCLANTHACEAE

Thoracocarpus bissectus (Vell.) Harling, Acta Horti Berg. 18: 255 1958. FIG. 17.
Mamure.
Carludovica bracteosa Gleason, *C. kegeliana* Lem., *C. mattogrossensis* Lindm., *C. sarmentosa* Sagot ex Drude, *C. tristicha* Drude, *Dracontium bissectum* Vell., *Philodendron bissectum* (Vell.) Stellfeld
Trepadora mediante raíces adventicias; raíces de dos tipos. Hojas flabeliformes.

DILLENIACEAE

Principalmente lianas, por lo general fáciles de reconocer por su corteza lisa como papel, roja, en ocasiones desprendiéndose en láminas. Hojas frecuentemente coriáceas y ásperas al tacto, glabras o pelosas con tricomas simples o fasciculados esclerificados o silicificados, ocasionalmente estrellados.

Davilla rugosa Poir., Encycl. Suppl. 2: 457 1812. FIG. 18A.
Bejuco chaparrillo peluo.
Davilla brasiliana DC., *D. pilosa* Miq., *D. rugosa* var. *capitata* Rusby, *D. rugosa* var. *kunthii* Eichler, *D. rugosa* var. *luschnathii* Eichler, *D. rugosa* var. *martii* Eichler, *D. rugosa* var. *sellowii* Eichler, *D. rugosa* var. *willdenowii* Eichler, *Tetracera lima* Willd. ex DC.

Davilla kunthii A.St.-Hil., Pl. Usuel. Bras. 5: 6, t. 22 1825. FIG. 18B.
Bejuco de agua, bejuco chaparrillo.
Davilla aspera (Aubl.) Benoist, *D. aspera* var. *tenuis* (Eichler) Benoist, *D. asperrima* Splitg., *D. brasiliana* Billb. ex Beurl., *D. densa* J.F.Macbr., *D. lucida* C.Presl, *D. lucida* var. *tenuis* Eichler, *D. ovata* C.Presl, *D. pseudorugosa* Glaz., *D. surinamensis* Miq., *D. tenuis* Eichler, *Hieronia scabra* Vell., *Tetracera aspera* (Aubl.) Willd., *T. calophylla* Gilg, *T. plicata* Willd. ex Schltdl., *T. rugosa* Kunth ex Schltdl., *Tigarea aspera* Aubl.

Tetracera volubilis Kunth, Nov. Gen. Sp. (quarto ed.) 5: 50-51. FIG. 19.
Bejuco chaparrillo.
Tetracera alata C. Presl, *Tetracera erecta* Sessé & Moc. ex DC., *T. mexicana* Eichler, *T. williamsii* J.F. Macbr.

1 Trepadora escabrosa (áspera al tacto), procesos tricomatosos estrellado-equinulados en toda la superficie de la muestra. Sin secreción o poco notoria al corte. Hojas ovales 10-18 cm de largo por 4-6 cm de ancho; borde aserrado .... *Tetracera volubilis*
1 Trepadora no escabrosa, pelosas, sin procesos tricomatosos estrellado-equinulados en su superficie. Lámina foliar estrechamente prolongada hacia el pecíolo. Notable secreción hialina (agua) al corte 2
2 Pelos simples, conspicuamente ferrugíneos. Hojas de 12-24 cm de largo por 3-7,5 cm de ancho, abundantemente, peloso-ferrugíneos por ambas caras, lámina foliar oval-lanceolada; borde sinuado-denticulado .... *Davilla rugosa*
2 Pelos simples nunca ferrugíneos. Hojas de 10-



FIGURA 17. *Thoracocarpus bissectus*



FIGURA 18A. *Davilla rugosa*



FIGURA 18B. *Davilla kunthii*



FIGURA 19. *Tetracera volubilis*

11 cm de largo por 4-5 cm de ancho, pelosas por el envés, en la haz en la vena media y venas secundarias, más abundante hacia la base; lámina foliar oblongo-espatulado; borde sinuado .... *Davilla kunthii*

LEGUMINOSAE
CAESALPINOIDEAE

Bauhinia guianensis Aubl., Hist. Pl. Guiane 1: 377, t. 145. 1775. ***FIG. 20A.***
Bejuco cadeno.
Bauhinia chrysophylla M. Vahl ex DC., *B. chrysophylla* Vogel, *B. excisa* (Griseb.) Hemsl., *B. manca* Standl., *B. marowijnensis* Kleinhoonte, *B. obovata* S.F.Blake, *B. outimouta* Aubl., *B. riparia* Splitg. ex Benth., *B. rubiginosa* Bong., *B. sericella* Standl., *B. speciosa* Roxb., in Wallich, *B. speciosa* Vogel, *B. splendens* var. *latifolia* Benth., *B. superba* Steud., *B. thompsonii* I.M.Johnst., *Schnella bicomata* Pittier, *S. excisa* Griseb., *S. obovata* (S.F.Blake) Britton & Rose, *S. rubiginosa* Benth.
Bauhinia scala-simiae Sandwith, Bull. Misc. Inform. Kew 1931: 362. ***FIG. 20B.***
Bejuco cadeno.
Senna nitida (Rich.) H.S. Irwin & Barneby, Mem. New York Bot. Gard. 35: 159. 1982. ***FIG. 21.***
Candelita
Cassia antillana (Britton & Rose) Alain, *Cassia nitida* Rich., *Chamaefistula antillana* Britton & Rose.

1 Hojas pinnadas, tetrafolioladas, glabras; pecíolos y raquis surcado, con una glándula estipitada linear entre cada par de folíolos. Arbusto sarmentoso o escandente de tallo cilíndrico, glabro, sin secreción al corte .... *Senna nitida*
1 Hojas enteras o hendidas hasta la base, bifolioladas, glabras o pelosas; pecíolos no surcado, eglandulares. Trepadora de tallo plano, irregular, semejando los eslabones de una cadena, glabro o peloso, usualmente con secreción transparente al corte 2
2 Hojas enteras, pelosas por el envés. Tallo peloso .... *Bauhinia scala-simiae*
2 Hojas hendidas hasta la base, bifolioladas, glabras Tallo glabro .... *Bauhinia guianensis*

MIMOSOIDEAE

Acacia articulata Ducke, Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro 3: 73. 1922. ***FIG. 24A.***
Bejuco jalapatrás
Manganaroa articulata (Ducke) Speg.
Acacia tenuifolia (L.) Willd., Sp. Pl., ed. 4 [Willdenow] 4(2): 1091. 1806. ***FIG. 24B.***
Bejuco arestín
Acacia claussenii Benth., *A. grandisiliqua* (Vell.) Benth., *A. martinicensis* C.Presl, *A. microcephala* A.Rich., *A. paniculata* Duss, *A. paniculata* Willd., *Manganaroa paniculata* (Willd.) Speg., *Mimosa grandisiliqua* Vell., *M. paniculata* (Willd.) Poir., *M. tenuifolia* L., *Senegalia paniculata* (Willd.) Killip, *S. tenuifolia* (L.) Britton & Rose, *S. tomentella* Britton & Killip, *S. turbacensis* Britton & Killip.

1 Hojas con más de 20 pínnulas por raquis. Ramas jóvenes más o menos tetrangulares, con aguijones retrorsos. Folíolos lineales, asimétricos, 0,6 cm de largo por 0,1 cm de ancho .... *Acacia tenuifolia*
1 Hojas con menos de 10 pínnulas por raquis, más o menos 7. Ramas jóvenes notoriamente angulosas; con abundantes aguijones, retror-




FIGURA 20A. ***Bauhinia guianensis***



FIGURA 20B. ***Bauhinia scala-simiae***



FIGURA 21. ***Senna nitida***

sos. Folíolos falcados, asimétricos, pelosos, glandulosos, 1 cm de largo por 0,4 cm de ancho .... *Acacia articulata*

PAPILIONOIDEAE

Machaerium macrophyllum Benth., Commentat. Legum. Gen. 35. 1837. FIG. 22.
Bejuco sangrito, bejuco vainespá
Drepanocarpus macrophyllus Ducke
Mucuna urens (L.) Medik., Prodr. 2: 1825. FIG. 23.
Bejuco pepa zamuro.
Dolichos altissimus Jacq., *D. urens* Roxb. ex Wight & Arn., *D. urens* (1759), *Mucuna altissima* Bojer ex Benth., *M. altissima* Scop., *M. altissima* (Jacq.) DC., *M. urens* (L.) Fawc. & Rendle, *Stizolobium altissimum* (Jacq.) Pers., *S. urens* (L.) Pers.

1 Trepadora leñosa, armada, espinas. Látex rojo. Hojas pinnadas, folíolos 6-7, obovado-elíptico a oval-elíptico; haz glabro o con pelos simples en la vena media, verde brillante; envés glabrescente o con abundantes pelos simples aplicados, en toda su superficie .... *Machaerium macrophyllum*
1 Trepadora poco leñosa, inerme, Látex ausente, secreción hialina, mucilaginosa muy escasa al corte. Hoja 3-foliolada; folíolos oblongos, haz glabro, verde brillante, envés glabro, con diminutos pelos en la vena media .... *Mucuna urens*

MALPIGHIACEAE

Lophopterys euryptera Sandwith, Kew Bull. 6: 34 1951. FIG. 25.
Bejuco melocotón.
Lophopterys splendens var. *obovata* Nied.
Stigmaphyllon adenodon A. Juss., Ann. Sci. Nat., Bot. II, 13: 288 1840. FIG. 26.
Bejuco batatillo negro.
Stigmaphyllon grenadense Nied., *S. kuhlmannii* Pilg.

1 Hojas opuestas o subopuestas, obovadas, eglandulares; haz verde oscuro, envés y densa y profundamente plateado seríceo. Estípulas inconspicuas, intrapeciolares .... *Lophopterys euryptera*
1 Hojas opuestas de lámina entera o lobada, cordada acuminadas, con par de glándulas en la base; verde en ambas caras, haz glabrescente con pelos mediifijos en las venas, envés densamente peloso con pelos mediifijos. Estípulas pequeñas, interpeciolares .... *Stigmaphyllon adenodon*

MARCGRAVIACEAE

Norantea guianensis Aubl. subsp. **japurensis** (Mart.) Bedell, Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 45: 1256 1993. FIG. 27.
Cola guacamaya.
Ascium japurense (Mart.) Steud., *Norantea guianensis* var. *gracilis* Wittm., *N. guianensis* var. *japurensis* (Mart.) G.L.Ferreira, *N. japurensis* Mart.
Tallo de dos tipos según su posición en la planta y estado de desarrollo. Hojas coriáceas, estipuladas. Trepadora de floración muy vistosa.

MENISPERMACEAE

Curarea candicans (Rich. ex DC.) Barneby & Krukoff, Mem. New York Bot. Gard. 22(2): 12 1971. FIG. 28.
Bejuco polea.
Abuta candicans Rich. ex DC., *A. limaciifolia* Diels, *A. pullei* Diels, *Chondrodendron candicans* (Rich. ex DC.) Sandwith, *C. limaciifolium*



FIGURA 22. *Machaerium macrophyllum*



FIGURA 23. *Mucuna urens*



FIGURA 24A. *Acacia articulata*

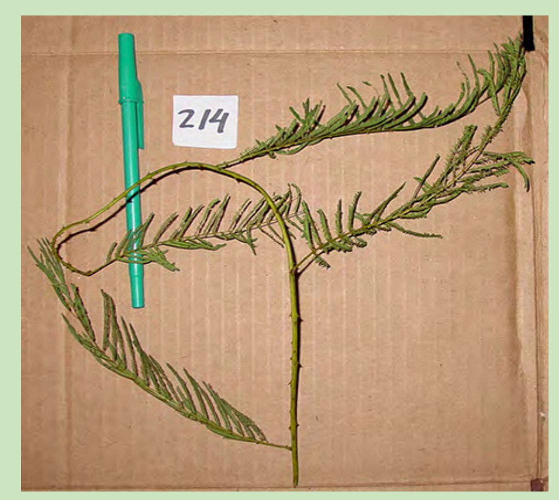


FIGURA 24B. *Acacia tenuifolia*

FIGURA 25. ***Lophopterys euryptera***



FIGURA 26. ***Stigmaphyllon adenodon***



FIGURA 27. ***Norantea guianensis*** subsp. ***japurensis***



FIGURA 28. ***Curarea candicans***

(Diels) Moldenke, *Cocculus dichroa* Mart., *Sciadotenia candicans* (Rich. ex DC.) Diels, *S. leucophylla* Miers
Trepadora leñosa. Hojas basinervadas.

PHYTOLACCACEAE

Seguieria macrophylla Benth., Trans. Linn. Soc. London 18: 235 1839. **FIG. 29.**
Bejuco limoncillo.
Securidaca macrophylla Walp., *Seguieria cordata* Britton
Trepadora leñosa, armada, aromática; ramas verdes fistulosas.

PIPERACEAE

Piper hostmannianum (Miq.) C. DC., Prodr. 16(1): 287 1869. **FIG. 30.**
Anicillo.
Artanthe berbicense Miq., *A. hostmanniana* Miq., *A. ramiflora* Miq. ex C. DC., *A. remiflora* Miq. ex C. DC., *Piper hostmannianum* var. *berbicense* (Miq.) C. DC., *P. hostmannianum* var. *glabrirameum* Trel. & Yunck., *P. hostmannianum* var. *ramiflorum* C. DC., *P. rio-paraguanum* Trel. ex V.M. Badillo, *P. subcrassifolium* Yunck.
Trepadora aromática; inflorescencia en espiga, blanca.

POLYGALACEAE

Securidaca coriacea Bonpl., Ges. Naturf. Freunde Berlin Mag. Neuesten Entdeck. Gesammten Naturk. 2: 47 1808. **FIG. 31.**
Nombre vulgar desconocido.
Bredemeyera mollis (Triana & Planch.) Dugand, *Catocoma mollis* Triana & Planch., *Elsota coriacea* (Walp.) S.F.Blake, *E. mollis* (Kunth) Kuntze, *Securidaca diversifolia* var. *mollis* (Kunth) Oort, nom. illeg., *S. mollis* Kunth, *S. volubilis* var. *mollis* (Kunth) Triana & Planch.
Trepadora de flores amarillas vistosas; estambres con apertura subapical.

POLYGONACEAE

Coccoloba marginata Benth., London J. Bot. 4: 626 1845. **FIG. 32.**
Bejuco guayapon.
Coccoloba guianensis Meisn., *C. guianensis* var. *angustifolia* Meisn.*C. guianensis* var. *macrostachya* Meisn., *C. guianensis* var. *major* Meisn., *C. microneura* Meisn., *C. nitida* Kunth, *C. pendula* Salzm. ex Lindau, *C. recurva* Newman ex Lindau, *C. trinitatis* Lindau, *Uvifera marginata* Kuntze, *U. microneura* Kuntze, *U. trinitatis* Kuntze.
Trepadora leñosa, sin zarcillos

RHAMNACEAE

Gouania lupuloides (L.) Urb., Symb. Antill. 4: 378 1910. **FIG. 33.**
Bejuco reuma.
Banisteria lupuloides L., *Gouania domingensis* (Jacq.) L., *G. glabra* Jacq., *G. glabriuscula* Stokes, *G. lupuloides* var. *aptera* Urb., *G. lupuloides* var. *parvifolia* Hadac, *G. paniculata* Spreng., *Lupulus lupuloides* (L.) Kuntze, *Rhamnus domingensis* Jacq.
Zarcillos como una modificación de una corta rama axilar, generalmente 1-foliolada, o de la base de una inflorescencia.

RUBIACEAE

Uncaria guianensis (Aubl.) J.F.Gmel., Syst. Nat. 370 1791. **FIG. 34.**
Bejuco uña de gato.



FIGURA 29. ***Seguieria macrophylla***



FIGURA 30. ***Piper hostmannianum***



FIGURA 31. ***Securidaca coriacea***

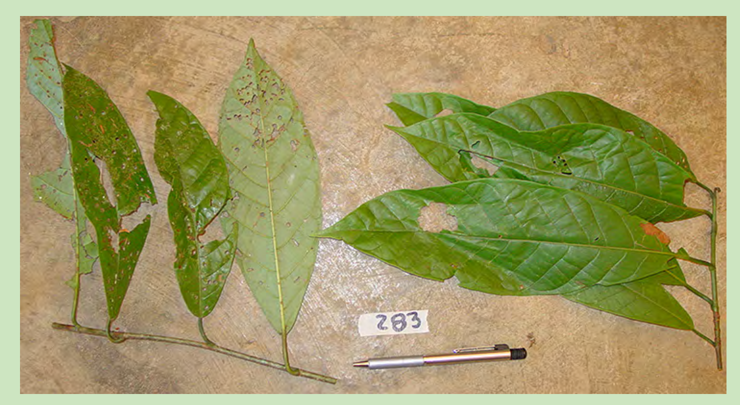


FIGURA 32. ***Coccoloba marginata***

Nauclea aculeata (Willd.) Willd., *N. guianensis* (Aubl.) Poir., *Ourouparia guianensis* Aubl., *Uncaria aculeata* Willd., *U. spinosa* Raeusch., *Uruparia versicolor* Raf.
Trepadora leñosa sin zarcillos. Hojas con un par de espinas curvas, axilares; estipulas interpeciolares.

SAPINDACEAE

Serjania Raquis y/o pecíolo alargado, alado o no. Hojas 2-ternadas. Estípulas diminutas, deciduas. Zarcillos axilares en pares (bifurcados) en la porción basal florífera de la inflorescencia. Exudado, si presente, laticífero. Tallo más o menos profundamente lobado o asurcado en sentido longitudinal.

Serjania atrolineata C.Wright., Anales Acad. Ci. Méd. Habana 5: 292 1868. *FIG. 35A.*
Bejuco tres filos, bejuco tres venas
Serjania atrolineata fo. *lancifolia* Radlk., *S. scatens* Radlk.

Serjania pyramidata Radlk., Monogr. Serjania 155 1875. *FIG. 35B.*
Bejuco moreno
Serjania decapleuria Croat,

1 Sección transversal del tallo con 8-10 cilindro vasculares periféricos, dispuestos en círculo en torno al cilindro central; látex amarillo. Hojas sin expansiones laminares, pelosas en el raquis, pecíolo y vena media .... *Serjania pyramidata*
1 Sección transversal del tallo con tres cilindros periféricos dispuestos en un triangulo en torno



FIGURA 33. ***Gouania lupuloides***



FIGURA 34. ***Uncaria guianensis***



FIGURA 35A. ***Serjania atrolineata***



FIGURA 35B. ***Serjania pyramidata***

al cilindro central; látex ausente. Hojas con raquis y pecíolo provisto de expansiones laminares o no, glabras .... *Serjania atrolineata*

SMILACACEAE

Smilax maypurensis Humb. & Bonpl. ex Willd., Sp. Pl. 4: 776 1806. **FIG. 36.**
Bejuco espina de corona.
Bejuco leñoso, armado, con zarcillos en pares como una prolongación de la vaina foliar.

VERBENACEAE

Petrea volubilis L., Sp. Pl. 626 1753. **FIG. 37.**
Bejuco chaparrillo blanco.
Petrea amazonica Moldenke, *P. arborea* Kunth, *P. arborea* f. *albiflora* Standl., *P. arborea* var. *broadwayi* Moldenke, *P. arborea* f. *broadwayi* (Moldenke) Moldenke, *P. arborescens* Archer ex Moldenke, *P. aspera* Turcz., *P. aspera* f. *albiflora* Moldenke, *P. atrocoerulea* Moldenke, *P. colombiana* Moldenke, *P. erecta* Lodd., *P. fragrantissima* Rusby, *P. kohautiana* C.Presl, *P. kohautiana* f. *alba* (G.F.Freeman & W.G.Freeman) Moldenke, *P. kohautiana* var. *anomala* Moldenke, *P. kohautiana* var. *pilosula* Moldenke, *P. mexicana* Willd. ex Cham., *P. mexicana* Kunth ex M. Martens & Galeotti, *P. nitidula* Moldenke, *P. ovata* M.Martens & Galeotti, *P. racemosa* f. *alba* (Kuhlm. ex Moldenke) Moldenke, *P. racemosa* var. *alba* Kuhlm. ex Moldenke, *P. retusa* C.Presl, *P. riparia* Moldenke, *P. rivularis* Moldenke, *P. serrata* C.Presl, *P. stapeliae* Paxton, *P. subserrata* Bárcena, *P. subserrata* Cham., *P. swallenii* Moldenke, *P. vincentina* Turcz., *P. volubilis* Gaertn., *P. volubilis* var. *alba* G.F.Freeman & W.G.Freeman, *P. volubilis* var. *albiflora* (Standl.) Moldenke, *P. volubilis* f. *albiflora* (Standl.) Standl., *P. volubilis* var. *mexicana* Cham., *P. volubilis* f. *pubescens* (Moldenke) Moldenke, *P. volubilis* var. *pubescens* Moldenke,
Trepadora leñosa sin zarcillos; hojas escabrosas.

VITACEAE

Cissus haematantha Miq., Linnaea 26: 220 1853. **FIG. 38.**
Nombre vulgar desconocido.
Trepadora. Zarcillos opositifolios, ramificados, apicalmente discoideos. Apéndices laminares en la base del pecíolo; estipulas pequeñas deciduas. Inflorescencias densas con flores rojas.

Tres familias, Bignoniaceae Leguminosae y Dilleniaceae, representando el 12 % del total de familias estudiadas, el 32,4 % de los géneros y el 38,6 % de las especies, resultaron dominantes. Las familias Bignoniaceae y Dilleniaceae se ubican entre las de mayor representatividad



FIGURA 36. ***Smilax maypurensis***



FIGURA 37. ***Petrea volubilis***



FIGURA 38. ***Cissus haematantha***

específica, lo cual coincide con los resultados obtenidos en estudios anteriores de lianas: Hernández (1992, 1997), Hernández *et al.* (2007), Fedón & Castillo (2009), Díaz *et al.* (2010). Las familias Hippocrateaceae, Malpighiaceae y Apocynaceae, si bien no trascendieron con la mayor representación específica en este trabajo, agruparon el mayor número de especies en estudios de lianas en diferentes regiones geográficas del país: Hernández (1992, 1997), Fedón & Castillo (2005, 2009), Hernández *et al.* (2007), Díaz *et al.* (2010). Se registran en este estudio las familias Cyclanthaceae y Piperaceae, no reportadas en estudios realizados en los estados Barinas, Bolívar y Amazonas (Hernández 1992, 1997), Hernández *et al.* (2007), Fedón & Castillo (2009), Díaz *et al.* (2010). La familia Marcgraviaceae, con representación en este trabajo, es reportada por Fedón *et al.* (2009) y Duno *et al.* (2007); de igual forma, la Cyclanthaceae, que es reportada por Duno *et al.* (2007).

El tratamiento taxonómico proporcionado al grupo de las leguminosas, al incluirlas en la familia Leguminosae, difiere al dado en otros trabajos, sin embargo, los resultados obtenidos, ratifican la posición de importancia de este grupo taxonómico y se corresponden con los obtenidos por Hernández (1992, 1997), Hernández *et al.* (2007), Fedón *et al.* (2009) y Díaz *et al.* (2010).

En este estudio se confirma, la importancia de las lianas en diferentes tipos de comunidades de los bosques húmedos tropicales, con temperaturas medias y altas y sin déficit hídrico, que constituyen las condiciones ideales para una alta representación florística de esta forma de vida según lo señalado por Aristeguieta (1953), y su alta incidencia en sitios perturbados Rollet (1971), Hernández (1992, 1997), Hernández *et al.* (2007), Lozada *et al.* (2011).

CONCLUSIONES

Se alcanzaron 52 registros de especímenes para un total de 25 familias, 37 géneros y 44 especies. Tres familias, Bignoniaceae, Leguminosae y Dilleniaceae representan el 12 % del total, resultando dominantes con un 32,4 % de géneros y 38,6 % de especies.

Las familias Hippocrateaceae, Malpighiaceae, y Apocynaceae, si bien no trascendieron con la mayor representación específica, constituyen un elemento importante en la representación florística del área de estudio.

La alta representación florística de la forma de vida liana en el bosque húmedo tropical alto y siempreverde, y su alta incidencia en sitios perturbados, confirma la importancia de su estudio y la necesidad de su caracterización en cuanto a florística, ecología y biología reproductiva, como herramienta indispensable en el manejo del bosque tropical.

El uso de caracteres vegetativos de las ejemplares botánicos, de los caracteres morfológicos macroscópicos de las muestras de madera, y fotografías en verde, hacen posible la separación de los taxa y constituyen una herramienta de mucha utilidad en la determinación de las especies de lianas, aspecto de mucha importancia por la dificultad de su recolección y por los diferentes estados fenológicos que puedan presentar.

AGRADECIMIENTOS

Durante los trabajos de campo, se recibió un valioso apoyo logístico de las empresas COMAFOR y aserradero Hermanos Hernández. La Organización Internacional de las Maderas Tropicales (OIMT, Proyecto 094/04S) aportó los recursos financieros para la realización del estudio.

Al personal de los herbarios MER y PORT. A los profesores Gerardo Aymard y Gilberto Morillo por su asesoramiento, así como al profesor Pablo Meléndez por la determinación del género *Machaerium*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO-RODRIGUEZ, P. 2003. Bejucos y plantas trepadoras de Puerto Rico e Islas Vírgenes. Smithsonian Institution. Washington, DC. 491 p.

ARISTEGUIETA, L. 1953. Las plantas trepadoras o lianas de Venezuela. Bol. Soc. Ci. Nat. 79: 182-199.

AUSTIN, F. 1982. Convolvulaceae. En: Flora de Venezuela (Zoraida Luces de Febres y J.A. Steyermark, (eds.) 8(3): 15-226. Instituto Nacional de Parques. Dirección de Investigaciones Biológicas. Ediciones Fundación Educación Ambiental, Caracas.15–226.

AYMARD, G. 2011. Boques húmedos macrotérmicos de Venezuela. Biollania (edic. esp.) 10: 33-46.

BERRY, P.E., B.K. HOLST & YASKIEVYCH (eds.). 1995-2005. Flora of the Venezuelan Guayana. Vol. 2-9. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis, MI, USA.

CAMARIPANO, B. & A. CASTILLO. 2004. Formas de vida y riqueza de especies vegetales en el bosque estacional inundable (Igapó Estacional) del río Sipapo, estado Amazonas, Venezuela. Revista de investigación, ISSN 1010 2914. 56: 37-58.

DÍAZ, W.; J. RUEDA.; O. ACOSTA; O. MARTÍNEZ & H. CASTELLANOS. 2010. Composición florística del bosque ribereño del río San José, Reserva Forestal Imataca, estado Bolívar, Venezuela. Acta Bot. Venez. [online]. 2010, 33(1): 1-21.

DUNO, S.; G. AYMARD & O. HUBBER (eds.) 2007. Catálogo anotado e ilustrado de la flora vascular de los llanos de Venezuela. FUDENA, Fundación Empresas Polar, FIBV. Caracas. 859 p.

EWEL, J.; A. MADRIZ & J. TOSI. 1976. Zonas de Vida de Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría, Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas, Venezuela. 264 p.

FEDÓN, I. & A. CASTILLO. 2005. Angiospermas trepadoras de los bosques ribereños de una sección de la cuenca baja de los ríos Cuao-Sipapo (Estado Amazonas, Venezuela). Acta Botanica Venezuelica 28(1): 7-37.

FEDÓN, I. & A. CASTILLO. 2009. Clave para identificar trepadoras de bosques ribereños de los ríos Cuao y Sipapo (Estado Amazonas, Venezuela). Pittieria 33: 29-45.

GENTRY, A. 1977a. Bignoniaceae. In: Flora del Ecuador (Harling, G. & B. Sparre, eds.). 7: 3-137.

GENTRY, A. 1977b. Bignoniaceae. In: Flora de Venezuela 3(1): 460p.

GENTRY, A. 1982. Neotropical floristic diversity: Phytogeographical connections between Central and South America, pleistocene climatic fluctuations, or an Accident of the Andean Orogeny?. Ann. Missouri Bot. Gard. 69: 557-593. St. Louis, MI, USA.

GENTRY, A. 1986. Sumario de patrones fitogeográficos neotropicales y sus implicaciones para el desarrollo de la Amazonia. Revista Acad. Colomb. Ci. Exact. 16: 101-115.

GIAMMARRESI, A. 1989. Aplicación de un sistema de clasificación de formas de vida en el Área de Estudios Ecológicos y Biológicos del comodato U.L.A.- M.A.R.N.R. de la Reserva Forestal Caparo, Estado Barinas. Escuela de Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Mérida, Venezuela. Mimeografiado. 161 p. (Trabajo de grado).

HERNÁNDEZ, C. 1992. Incidencia de lianas en parcelas con diferentes límites diamétricos de explotación en un sector de la Unidad I de la Reserva Forestal Caparo. Centro de Estudios Forestales de Postgrado, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Mérida, Venezuela. 82 p. (Tesis de grado M.Sc).

HERNÁNDEZ, C. 1997. Variación de la abundancia de lianas en parcelas de bosque natural no perturbado y en parcelas sometidas a diferentes intensidades de perturbación en un sector del Área Experimental de Reserva Forestal Caparo. Escuela de Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Mérida, Venezuela. Mimeografiado. 161 p. (Trabajo de ascenso).

HERNÁNDEZ, C. 2003. Especies de lianas del Área Experimental Reserva Forestal Caparo, estado Barinas, Venezuela. Revista Forestal Venezolana, 47(1):19-30.

HERNÁNDEZ, J., C. HERNÁNDEZ & O. NOGUERA. 2007. Estudio florístico de lianas con fines de manejo del bosque, en un área del lote boscoso El Dorado. Tumeremo, estado Bolívar, Venezuela. Revista Forestal Venezolana, 51(2):153-164.

HUBER O. 1995. Guayana Venezolana – Mapa de Vegetación. CVG – Edelca, Missouri Botanical Garden. Caracas. Escala 1:2.000.000.

LEWIS, G., B. SCHRIRE, B. MACKINDER & M. LOCK. 2005. Introduction. In: Legumes of the World (Lewis, G., B. Schrire, B. Mackinder & M. Lock, Eds.), The Royal Botanic Gardens, Kew. p. 1-12.

LOZADA, J. (2008). Sucesión vegetal en bosques aprovechados en la Reserva Forestal Caparo y Reserva Forestal Imataca, Venezuela. Universidad de Valencia, España. 418 p. (Tesis doctoral).

LOZADA, J; JOSÉ G.; HERNÁNDEZ, C.; SORIANO, P. & COSTA, M. 2011. Los Bosques de la zona central de la Reserva Forestal Imataca, estado Bolívar, Venezuela. Biollania (edic. esp.) 10:47-62.

MARN-CIERFI-ULA. 2000. Levantamiento de la información básica existente sobre la flora de la Reserva Forestal Imataca. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales, Comisión Interna para la Evaluación de la Reserva Forestal Imataca, Universidad de Los Andes (UFORGA). Mérida, Venezuela. Mimeografiado. 152 p.

MARN-UCV. 2003. Bases técnicas para el Ordenamiento Territorial de la Reserva Forestal Imataca. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 283 p.

ROLLET, B. 1971. La regeneración natural en bosque denso siempreverde de llanura de la Guayana venezolana. Boletín del Instituto Forestal Latinoamericano 35: 39-73.

THE PLANT LIST (2010). Versión 1. http://www.theplantlist.org.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
41
ENERO-DICIEMBRE 2017
págs. 138—160

ECOANATOMÍA XILEMÁTICA DE 21 ESPECIES DE LA FAMILIA RUBIACEAE EN VENEZUELA

WOOD ECOANATOMY IN 21 SPECIES OF RUBIACEAE FAMILY FROM VENEZUELA

por

WILLIAMS J. LEÓN H.[1]
DIMAS A. HERNÁNDEZ A.[2]
LEIXI V. GARCÍA[1]

1 Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales.
Laboratorio de Anatomía de Maderas.
wleon@ula.ve; leixi_05@hotmail.com
2 Laboratorio de Fotogrametría y Sensores Remotos. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales.
Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
dimash@ula.ve

RECIBIDO: septiembre 28 de 2017 / **ACEPTADO:** noviembre 22 de 2017

RESUMEN

Se presenta el estudio de las características anatómicas de los elementos xilemáticos de conducción para 21 especies de la familia Rubiaceae que crecen en cuatro zonas de vida de Venezuela: bosque seco tropical, bosque húmedo tropical, bosque pluvial premontano y bosque muy húmedo premontano. Las características estudiadas en cada zona de vida fueron porosidad, agrupación, diámetro y frecuencia de vasos, diámetro y tipo de punteaduras, longitud de elementos de los vasos y la presencia de traqueidas o células radiales perforadas. Se calcularon los índices de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM). Se encontró que, independientemente de la zona de vida, los representantes de Rubiaceae tienden a desarrollar un sistema de conducción caracterizado por orientarse a la seguridad en el movimiento de líquidos (alta frecuencia y diámetro reducido de vasos, punteaduras pequeñas a diminutas, alta agrupación de vasos), con IV e IM inferiores al valor promedio reportado para las zonas de vida donde se desarrollan. Los valores de IV reflejan un comportamiento con alto grado o tendencias al xeromorfismo y solo el bosque pluvial premontano mostró valores de comportamiento mesomórfico.

PALABRAS CLAVE: Conducción xilemática, seguridad de conducción, xeromorfismo, zonas de vida.

ABSTRACT

A study of xylematic conductive elements in 21 species from Rubiaceae family growing in four life zones in Venezuela: tropical dry forest, tropical wet forest, rainy premontane forest and very wet premontane forest is presented. Studied features in each life zone are porosity, diameter and vessel frequency, intervessel pit diameter, intervessel pit type, vessel length element and presence of traqueids or perforated ray cells. Vulnerability (IV) and mesomorphic (IM) indexes are calculated. Rubiaceae family, in different life zones, shows a xylematic conductive system oriented to security in liquids movement (high vessel frequency, low diameter, minutes o small pits, high grouping vessels), with IV and IM lower to mean value for each life zone studied. IV shows a xeromorphic type in Rubiaceae and only in rainy premontane forest is observed a mesomorphic character.

KEY WORDS: Xylematic conductivity, securiy in conduction, xeromorphic type, life zones.

INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae está representada por aproximadamente 637 géneros y 10800 especies que incluyen árboles, arbustos, lianas y plantas de porte herbáceo. Es una de las familias más grandes del grupo de las plantas con flores y posee una distribución cosmopolita aunque su área de distribución más importante es la región tropical. Pueden tener gran importancia como frutal (*Coffea arabica*), en la producción de quinina (*Cinchona*) y en el área de horticultura (*Gardenia, Ixora, Mussaenda, Pentas*) (Taylor *et al*. 2004). En Venezuela se han reportado un total de 107 géneros y 777 especies de las cuales 254 son endémicas y se distribuyen a través de toda la geografía nacional (Taylor 2005). Según Veillon (1994), la familia Rubiaceae se encuentra representada en la mayoría de las zonas de vida de Venezuela y sólo indica su ausencia en bosque espinoso tropical, bosque muy seco tropical, bosque muy seco premontano y bosque húmedo subalpino. Esta amplia distribución puede ser indicativa del desarrollo de caracteres que le permita adaptarse en diferentes condiciones ambientales para establecerse de manera exitosa en áreas que para muchos grupos taxonómicos se pueden presentar como limitantes. Scholz *et al*. (2013) señalan que los elementos xilemáticos de conducción (vasos y traqueidas) representan el sistema más importante de células para el movimiento de agua y sales minerales a largas distancias en las plantas y permiten una mejor comprensión de las adaptaciones funcionales a diferentes parámetros ambientales. Según Carlquist (2001), características como el diámetro, frecuencia y longitud de elementos de los vasos son de gran importancia en la eficiencia y seguridad de conducción. Estos caracteres son utilizados para calcular los índices de vulnerabilidad y mesomorfía y determinar el tipo de comportamiento (xeromórfico o mesomórfico) que presentan las plantas ante determinadas condiciones ambientales. Ewers (1985) indica que se han establecido correlaciones entre el diámetro de los vasos y el sitio donde crece la planta observándose que en condiciones con limitación en cuanto a cantidad de humedad disponible, como en los ambientes áridos, árticos o alpinos, se tienden a desarrollar elementos de conducción de diámetro reducido.

Con respecto a la familia Rubiaceae, es poca la información que se tiene desde el punto de vista ecoanatómico de la madera y por lo general se restringe a reportes en donde se incluyen especies de diferentes grupos taxonómicos que crecen en un área en particular (Carlquist & Hoekman 1985; Baas & Schweingruber 1987; Alves & Angyalossy-Alfonso 2000; Barros *et al*. 2006). En Venezuela, se ha incluido a la Rubiaceae en diferentes estudios ecoanatómicos (Pérez 1989; León 2005, 2013, 2016) y en éstos se ha determinado el comportamiento de diferentes grupos taxonómicos en un área pero no se ha visto cómo varía el comportamiento de especies pertenecientes a una misma familia, pero que crecen en áreas diferentes.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el comportamiento ecoanatómico de especies de la familia Rubiaceae que crecen en diferentes zonas de vida, determinando las características de los elementos xilemáticos de conducción y calculando los índices de vulnerabilidad y mesomorfía como guía para conocer la condición de xeromorfia o mesomorfía en cada zona de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material de estudio está representado por muestras de madera de 21 especies de la familia Rubiaceae colectadas en diferentes localidades geográficas de Venezuela y que abarcan diferentes zonas de vida de acuerdo al sistema de clasificación de Holdridge (*CUADRO 1*). Para la ubicación de cada muestra en su respectiva zona de vida (*FIGURA 1*) se utilizó la información de los datos correspondientes a los voucher de las mismas disponibles en el Herbario MER “Carlos Liscano” y la xiloteca MERw de la Universidad de Los Andes y mediante procesos de georeferenciación y vectorización en el mapa de zonas de vida de Venezuela (Ewel *et al*. 1976) se logró la ubicación correspondiente y la determinación de la zona de vida donde fue colectada cada una de las muestras. Tanto la vectorización como la georeferenciación se realizó con el software SIG Qgis 2.18 y se diferenciaron tres áreas de estudio en las que se ubicaron cuatro zonas de vida: dos áreas en el oriente del país las cuales abarcaron los estados Bolívar (*FIGURA 2*) y Amazonas (*FIGURA 3*) y una tercera área al occidente del país (*FIGURA 4*) que abarcó sitios de colección en algunas localidades de los estados Barinas y Mérida. Las zonas de vida correspondientes a los puntos de localización de las muestras fueron las siguientes:

a) Bosque húmedo tropical: área con una precipitación promedio anual de 1800-3.800 mm y una biotemperatura superior a 24 °C, aunque en algunos casos puede ser de 22 °C y la relación evapotranspiración potencial/precipitación oscila entre 0,45 y 0,9; es decir que la cantidad de agua evapotranspirada (mm) anualmente puede variar entre casi la mitad hasta ser muy similar a la precipitación (mm), lo que indica un balance hídrico favorable. La formación se extiende desde el nivel del mar hasta 1.000 msnm (Ewel *et al*. 1976). En esta zona de vida se ubicaron un total de diez especies las cuales se distribuyeron tanto en el área oriental (*FIGURA 2*) como en el occidental (*FIGURA 4*).

b) Bosque seco tropical: es la zona de vida que cubre mayor extensión en el país. El promedio anual de precipitación es de 1.000-1.800 mm, aunque en zonas de altas temperaturas puede alcanzar valores de 1900 mm/año; la temperatura promedio anual varía entre 22 y 29 °C. La relación entre evapotranspiración potencial anual y lluvia puede variar de 0,9 hasta 2, lo que indica que la precipitación tiende a ser menor que la evapotranspiración potencial anual. Su límite altitudinal inferior es el nivel del mar y el límite superior se encuentra entre 400 y 1000 msnm, dependiendo de las condiciones de humedad (Ewel *et al*. 1976). Esta zona de vida se ubicó tanto al oriente (*FIGURA 3*) como al occidente del país (*FIGURA 4*) y se encontraron tres especies de las cuales *Amaioua guianensis* y *Genipa americana*, también están representadas en el bosque húmedo tropical.

CUADRO 1. Especies de Rubiaceae estudiadas en cuatro zonas de vida de Venezuela. Muestra de xiloteca, herbario, lugar de colección.

ESPECIE	MUESTRA DE XILOTECA Y HERBARIO (COLECTOR)	LUGAR DE COLECCIÓN
	BOSQUE HÚMEDO TROPICAL	
Amaioua corymbosa	1- X110; Bernardi 1149 2- X6403; Ruíz Terán 4883	Pedraza La Vieja, Barinas; 200-400 msnm Carretera Panamericana, límites Mérida-Zulia; 150-300 msnm
A. guianensis	3- X1859; Breteler 4049 4- X2478; Breteler 3804	Vía Barinas-San Cristóbal, Barinas; 350 msnm Frontera Bolívar-Delta Amacuro, Bolívar; 320 msnm (61°44´W-8°4´N)
Bertieria guianensis	6- X4226; Breteler 3937 7- X4230; Breteler 4045	Vía Barinas-San Cristóbal, Barinas; 350 msnm Vía Barinas-San Cristóbal, Barinas; 350 msnm
Chomelia venezuelensis	8- X4228; Breteler 4017	Reserva Forestal Ticoporo, Barinas; 350 msnm (70°45´W-8°15´N)
Genipa americana	9- X267; Bernardi 2176	Bosque Caño Amarillo, paraje de Caño Zancudo, Mérida
G. elliptica	10- X1853; Breteler 3993	Vía Barinas-San Cristóbal, Barinas; 300 msnm
Pagamea panamensis	11- X4223; Breteler 3706	Vía Barinas-San Cristóbal, a 60 Km de Barinas, Barinas; 300 msnm
Rudgea crassiloba	12- X1854; Breteler 4016	R. F. Ticoporo, Barinas; 350 msnm (70°45´W – 8°15´N)
R. hostmaniana	13- X4305; De Brujin 953	Vía Barinas-San Cristóbal, Barinas; 350 msnm
Warszewiczia coccinea	14- X1857; Breteler 4043	Vía Barinas-San Cristóbal, Barinas; 350 msnm
	BOSQUE SECO TROPICAL	
Amaioua guianensis	X6582; Ruíz Terán 4412	Isla de Ratón, río Orinoco, entre Samariapo y Boca de Vichada
Calycophyllum candidissimum	15- X130; Bernardi 1173 16- X2591; Bautista 175 17- X6367 León H.; ---	Bosques El Cachicamo y Sabana Nueva Libertad, Barinas; 100 msnm Bosque Caimital, Barinas; 170 msnm Bosque Caimital, Barinas; 170 msnm
Genipa americana	18- X6373 León H.; ---	Bosque Caimital, Barinas; 170 msnm
	BOSQUE PLUVIAL PREMONTANO	
Cinchona pubescens	20- X5462, ---	Bosque La Mucuy, Mérida; 2500 msnm
Guettarda crispiflora	21- X25; Little 15306	Bosque La Mucuy, Mérida; 2300 msnm
	BOSQUE MUY HÚMEDO PREMONTANO	
Calycophyllum venezuelense	23- X5217; Marcano Berti 27-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, entre Piedra La Virgen y salto El Dorado, Bolívar; 420-800 msnm
Cinchona pubescens	19- X4253; Breteler 4616	Carretera La Azulita, Mérida; 1.600 msnm
Cosmibuena grandiflora	24- X5219; Marcano Berti 31-981 25- X5237; Marcano Berti 65-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, entre Piedra La Virgen y Salto El Dorado, Bolívar; 420-800 msnm Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, Salto El Dorado, Bolívar; 1100-1220 msnm
Isertia hypoleuca	26- X5198; Marcano Berti 2-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, entre Km 88 y Piedra La Virgen, Bolívar; 180-420 msnm
Landenbergia lambertiana	30- X5258; Marcano Berti 124-981	Km 139 de Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, Bolívar; 1320 msnm
Psychotria berteroana	27- X5234; Marcano Berti 52-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, a 4 Km de Piedra La Virgen, Bolívar; 480 msnm
P. irwinii	28- X5227; Marcano Berti 41-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, entre Piedra La Virgen y Salto El Dorado, Bolívar; 420-800 msnm
P. poeppigiana	29- X5207; Marcano Berti 12-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, entre Km 88 y Piedra La Virgen, Bolívar; 180-420 msnm
Remijia densiflora	31- X5257; Marcano Berti 123-981	Vía El Dorado-Santa Elena de Uairén, alrededor del Km 139, Bolívar; 1.320 msnm

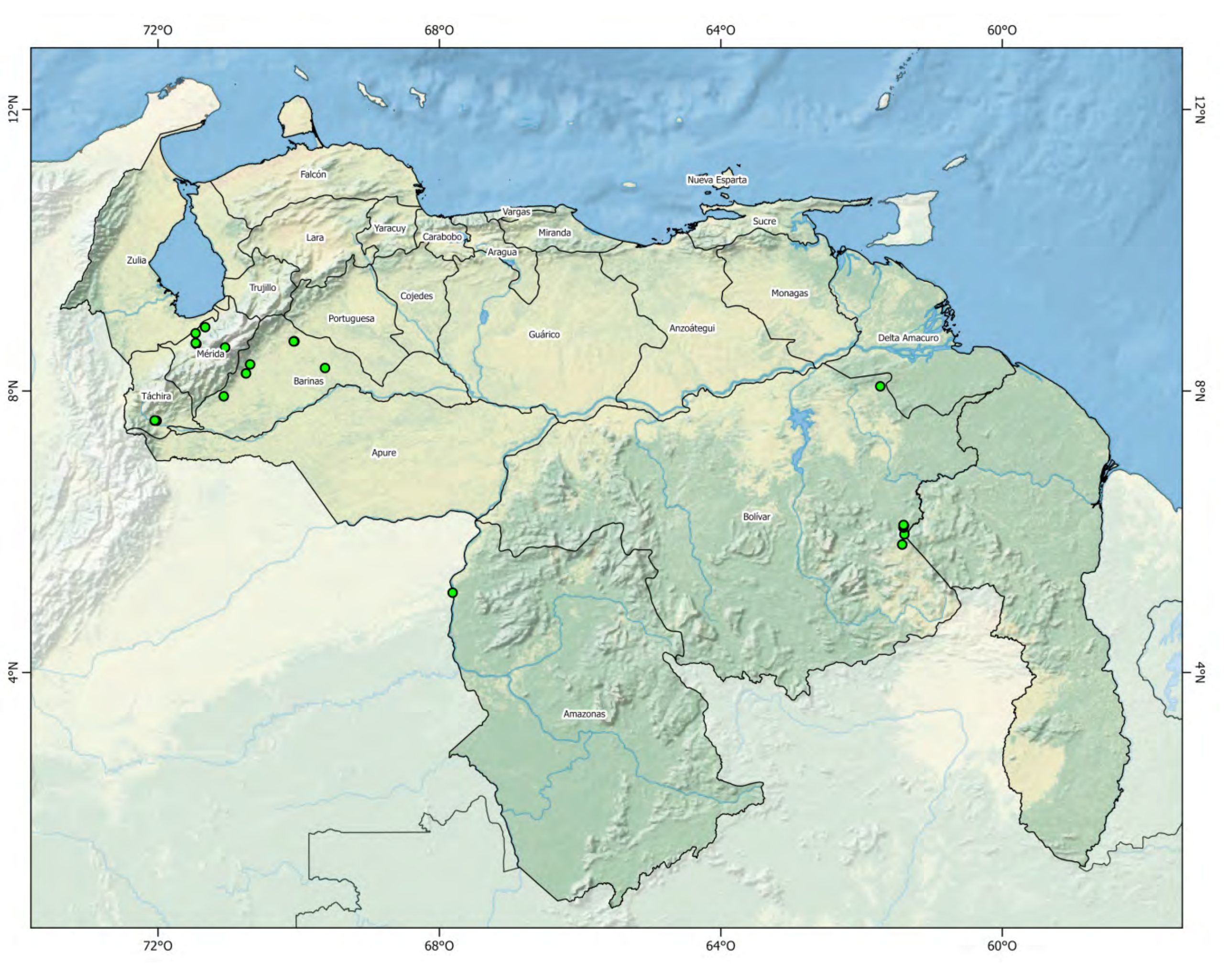


FIGURA 1. Zonas de recolección de las especies estudiadas.

c) Bosque muy húmedo premontano: tiene como límites climáticos generales una precipitación promedio anual de 2000-4000 mm y una temperatura de 18-24 °C/año; aunque esos valores pueden variar ligeramente con diferentes combinaciones temperatura-precipitación. La cantidad de precipitación es de dos a cuatro veces mayor que la evapotranspiración, tal como lo indica la relación evapotranspiración potencial/ precipitación (0,25-0,5). Se extiende desde 500 hasta 1.700 msnm aunque en algunas áreas de transición con bosque húmedo y muy húmedo tropical se ubica entre 200 y 500 msnm (Ewel *et al*. 1976). Nueve de las especies estudiadas se ubicaron en esta zona de vida y se encontró tanto al oriente ***(FIGURA 2)*** como en el occidente ***(FIGURA 4)*** de Venezuela.

FIGURA 2. Distribución por zonas de vida de especies de Rubiaceae en el estado Bolívar.

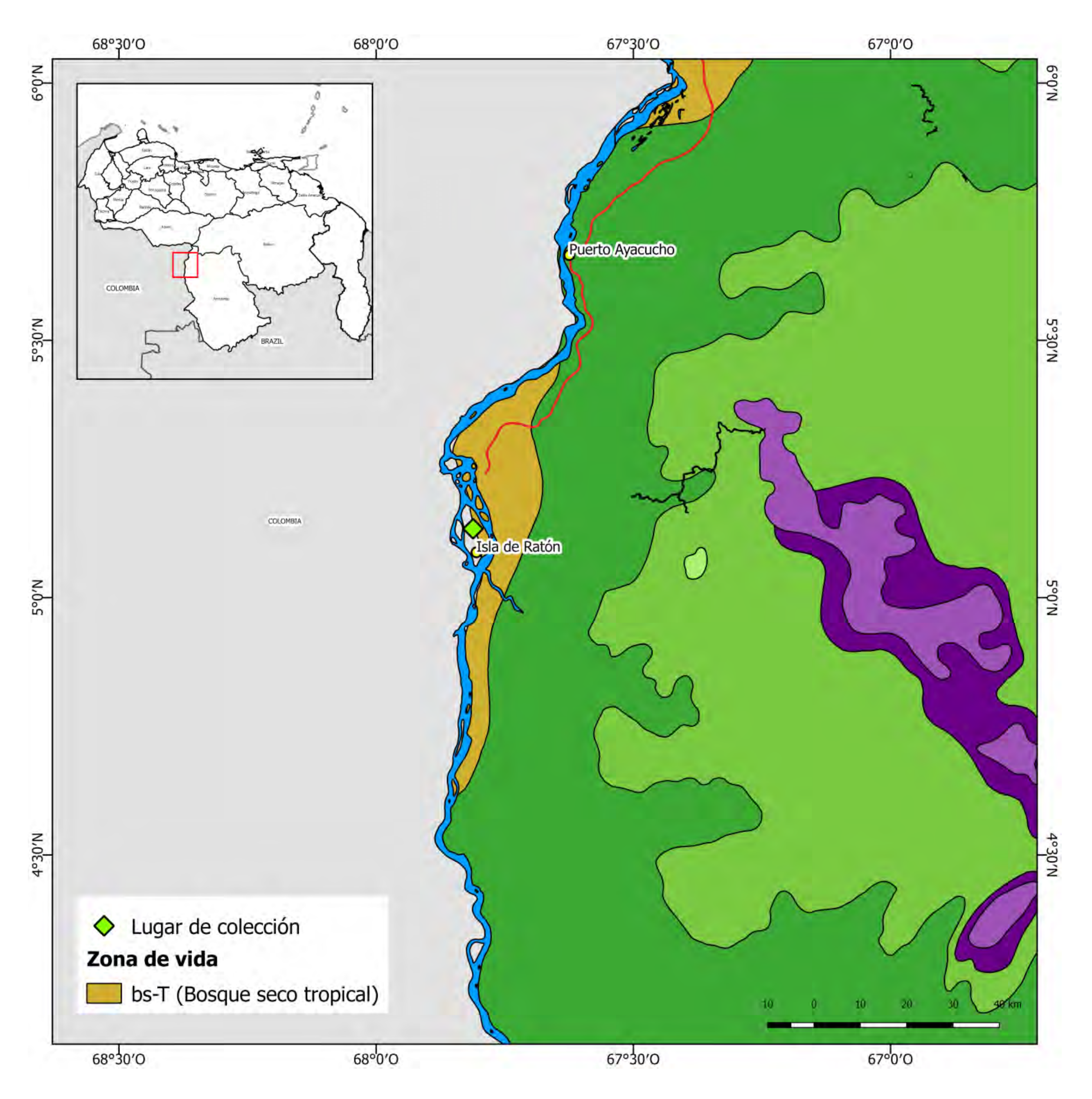


FIGURA 3. Distribución por zonas de vida de especies de Rubiaceae en el estado Amazonas.

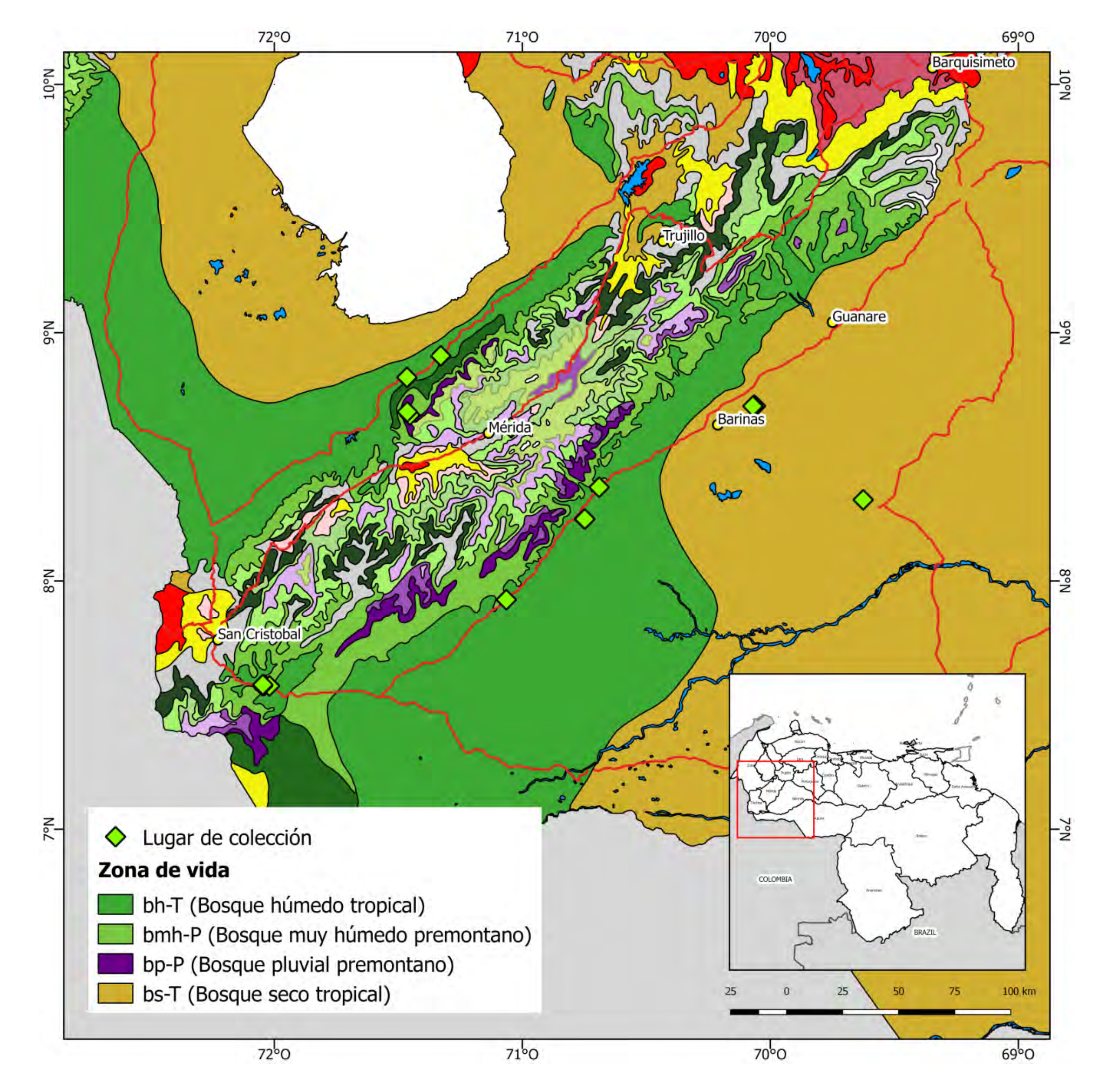


FIGURA 4. Distribución por zonas de vida de especies de Rubiaceae en los estados Mérida y Barinas.

d) Bosque pluvial premontano: el alto promedio anual de precipitación de esta zona de vida oscila entre 4000 y 8000 mm; la temperatura media anual está comprendida entre 18 y 24 °C y la evapotranspiración potencial anual es de 1000-1500 mm, es decir que la relación evapotranspiración/precipitación es menor de 0,25 (Ewel *et al.* 1976). Esta zona de vida se encontró en el occidente del país *(FIGURA 4)* e incluyó dos de las especies estudiadas y una de ellas (*Cinchona pubescens*) también se encontró representada en el bosque muy húmedo premontano.

Se procedió a la preparación de material para el estudio de las características cualitativas y cuantitativas de los elementos xilemáticos de conducción. Las características a estudiar son las indicadas por IAWA Committee (1989):

a) Vasos (porosidad, disposición, agrupación, tamaño, frecuencia, tipo de placa de perforación, longitud de los elementos de vasos, tipo y tamaño de punteaduras intervasculares).
b) Traqueidas: presencia y tipo (vasicéntricas, vasculares)
c) Células radiales perforadas: presencia.

La preparación del material de estudio se realizó siguiendo los procedimientos convencionales de microtecnia xilemática: de cada muestra se extrajeron cubos de madera de aproximadamente 1,5 cm^3 y se sometieron a un procedimiento de ablandamiento en agua hirviendo por tiempos que variaron entre 4 y 36 h dependiendo del grado de dureza de la madera. Se realizó el corte de secciones transversales, tangenciales y radiales, de 25-30 µm de espesor con un micrótomo de deslizamiento; dichas secciones fueron sumergidas en una solución de safranina (2-3 h) para su respectiva tinción; se deshidrataron y aclararon mediante baños sucesivos en alcohol al 50 % (15 min), 70 % (15 min), 75 % (15 min), 95 % (2-3 h), una mezcla alcohol-xilol (1:1, 20 min) y xilol (2-3 h). Finalmente se hizo el respectivo montaje usando resina sintética. Para la medición de la longitud de elementos de los vasos se preparó tejido macerado sumergiendo astillas de madera en una solución de peróxido de hidrógeno y ácido acético (1:1), las cuales se colocaron en estufa (60 °C, 12 h). Los elementos celulares fueron individualizaron mediante fricción mecánica, teñidos con safranina y montados haciendo uso de bálsamo de Canadá. En la determinación de características cuantitativas (frecuencia y diámetro de vasos, diámetro de punteaduras, longitud de elementos de los vasos) se siguieron los procedimientos indicados en IAWA Committee (1989). Se realizó un análisis de varianza y la respectiva prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0{,}01$) para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las especies dentro de cada zona de vida y entre las zonas de vida estudiadas. Se calcularon los índices de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM) propuestos por Carlquist (1977) para cada uno de los individuos estudiados:

IV = Frecuencia de vasos/Diámetro de vasos
IM = IV * Longitud de elementos de los vasos
Con los valores de IV e IM se determinó el tipo de comportamiento de cada especie de acuerdo a lo indicado por Carlquist (1977):
IV < 1; IM < 75: comportamiento xeromórfico
IV > 1; IM > 200: comportamiento mesomórfico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las zonas de vida donde se concentró mayor cantidad de especies fueron el bosque húmedo tropical (diez especies) y bosque muy húmedo premontano (nueve especies); mientras que hacia el bosque seco tropical y bosque pluvial premontano, la cantidad de especies se reduce a tres y dos respectivamente.

Con respecto a las características de los elementos de conducción, en las **CUADROS 2** y **3** se presentan las características cualitativas y cuantitativas, respectivamente, para cada especie y zona de vida donde se desarrolla.

A nivel de características cualitativas **(CUADRO 2)**, todas las especies, independientemente de la zona de vida donde se desarrolla, se caracterizaron por presentar porosidad difusa, vasos sin patrón definido de disposición, punteaduras intervasculares alternas, circulares a ovaladas. En cuanto a la agrupación de vasos, se presentó una combinación de vasos solitarios y múltiples radiales; en algunos casos predominaron los vasos múltiples y en otros los solitarios, siendo el caso más significativo el de *Landenbergia lambertiana* donde se presentaron vasos exclusivamente solitarios. Las placas de perforación son simples aunque en cinco especies (*Pagamea panamensis, Rudgea hostmaniana, Cinchona pubescens, Psychotria berteroana, Remijia densiflora*) se presentaron algunas placas de perforación múltiples, pero se mantuvo la predominancia de las simples. En ninguna de las especies se encontraron traqueidas como elemento subsidiario de conducción; mientras que la presencia de células radiales perforadas se observó en un total de diez especies distribuidas en tres de las cuatro zonas de vida estudiadas. En general, las características cualitativas de los elementos xilemáticos de conducción coinciden con lo reportado por Koek-Noorman (1969a,b, 1970), Lens *et al.* (2000), Jansen *et al.* (2002) y León (2011); aunque Koek-Noorman (1969a,b) no menciona sobre la presencia de células radiales perforadas y, con respecto a las placas de perforación escalariformes, sólo las indica para *Retiniphyllum laxiflorum*. Sin embargo, Koek-Noorman (1970) reporta la presencia de células radiales perforadas en algunas especies entre las cuales se incluyen *Calycophyllum candidissimum* y *Cinchona pubescens*; mientras que Baldin & Cardoso (2015) hacen mención al desarrollo de células perforadas en *Calycophyllum candidissimum*. Lens *et al.* (2000) también señalaron la presencia de células radiales perforadas en algunas especies de los géneros *Rytigynia*, *Canthium* y *Vangueria* (tribu Vanguerieae); mientras que Jansen *et al.* (2002) indicaron que este tipo de células se encuentra ampliamente distribuida en la familia Rubiaceae pero no indica los géneros o especies donde las mismas se presentan. Con respecto a la presencia de traqueidas, no se observaron en ninguna de las especies estudiadas, lo cual concuerda con lo reportado por Koek Noorman (1969a,b; 1970), Lens *et al.* (2000) y León (2011). No obstante, Jansen *et al.* (2002) mencionaron que este tipo de elemento conductivo se encuentra presente en muchos géneros de Rubiaceae pero sin indicar en cuáles de ellos observaron este tipo de células.

Con respecto a las características cuantitativas **(CUADRO 3)**, en líneas generales, se observó una alta frecuencia de vasos, con diámetro reducido, punteaduras intervasculares diminutas a pequeñas y longitud de elementos de los vasos medianos. La frecuencia de vasos fue la característica cuantitativa que mostró mayor variación, oscilando entre un valor mínimo de 11 vasos/mm^2 en un individuo de *Cosmibuena grandiflora* y un máximo de 187 en *Psychotria poeppigiana* y ambos valores se presentaron en individuos colectados en una misma zona de vida (bosque muy húmedo premontano). Tomando en consideración las categorías establecidas por IAWA Committee (1989), la distribución de frecuencias de vasos **(FIGURA 5)** en los bosques húmedo y seco tropical se concentraron en la categoría IV (40-100 vasos/mm^2), mientras que en los bosques pluvial premontano y muy húmedo premontano, la mayor cantidad de frecuencias corresponden a la categoría III (20-40 vasos/mm^2). En relación al diámetro de vasos, el comportamiento más común fue el desarrollo de vasos pequeños, con diámetros inferiores a 100 mm, ubicándose en la categoría II (50-100 µm) de IAWA Committee (1989), con la excepción del bosque pluvial premontano donde las dos especies estudiadas en esa zona de vida se ubicaron en la categoría III (100-200 µm) **(FIGURA 6)**. En los bosques seco tropical y pluvial premontano, aunque se trató de un número reducido de especies, se observó que las mismas muestran un comportamiento homogéneo de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,01); mientras que en los bosques húmedo tropical y muy húmedo premontano; aunque las especies estudiadas se concentraron dentro de dos categorías de tamaño de vasos, se formaron cuatro grupos que muestran diferencias estadísticamente significativas entre sí (Tukey, α = 0,01). El tamaño de las punteaduras intervasculares se ubicó en las categorías I (diminutas) y II (pequeñas) de IAWA Committee (1989). En el bosque húmedo tropical predominaron las especies con punteaduras pequeñas **(FIGURA 7)**; mientras que en el bosque seco tropical, muy húmedo tropical y pluvial premontano predominaron las especies con punteaduras diminutas **(FIGURA 7)**. A nivel de las especies representadas en cada zona de vida, con la excepción del bosque pluvial premontano, las mismas mostraron diferencias estadísticamente significativas (α = 0,01). La longitud de elementos de los vasos, independientemente de la zona de vida, se ubicó en la categoría II (350-800 µm) de IAWA Committee (1989). Sólo en el bosque muy húmedo montano se encontraron algunas especies en la categoría I (< 350 µm) **(FIGURA 8)**. Dentro de cada zona de vida, a pesar de la poca variación en cuanto a las categorías donde se ubican las especies estudiadas, el comportamiento entre especies si manifestó variación de acuerdo a lo indicado por la prueba de Tukey (α = 0,01).

El índice de vulnerabilidad (IV) se caracterizó por mostrar valores bajos donde predominan los comportamientos de tipo xeromórfico. Por lo general, los mayores valores se presentaron en las zonas de vida de bosque pluvial

CUADRO 2. Características cualitativas de los elementos xilemáticos de conducción para especies de Rubiaceae en bosque húmedo tropical, bosque seco tropical, bosque pluvial montano y bosque muy húmedo premontano.

ESPECIE	POROSIDAD	DISPOSICIÓN	AGRUPACIÓN	PLACA DE PERFORACIÓN	PUNTEADURAS INTERVASCULARES	TRAQUEIDAS	CÉLULAS RADIALES PERFORADAS
BOSQUE HÚMEDO TROPICAL							
Amaioua corymbosa	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-6	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
A. guianensis	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Bertieria guianensis	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-3; predom. solitarios	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Chomelia venezuelensis	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-5); predom. múltiples	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Genipa americana	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, algunos múltiples radiales de 2-3	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Guettarda elliptica	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-6 (-8)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Pagamea panamensis	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4)	Simples; ocasionalmente escalariformes (una barra)	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Rudgea crassiloba	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-5 (-7)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
R. hostmaniana	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-5 (-6)	Simples; algunas reticuladas	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Warszewiczia coccinea	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-5 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
BOSQUE SECO TROPICAL							
Amaioua guianensis	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Calycophyllum candidissimum	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-6; predom. múltiples	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Genipa americana	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, algunos múltiples radiales de 2-3	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
BOSQUE PLUVIAL PREMONTANO							
Cinchona pubescens	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-5)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Guettarda crispiflora	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
BOSQUE MUY HÚMEDO PREMONTANO							
Calycophyllum venezuelense	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, pred. múltiples radiales de 2-5 (-8)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Cinchona pubescens	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-5)	Simples; algunas escalariformes de cuatro barras	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes
Cosmibuena grandiflora	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-3 (-4)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Isertia hypoleuca	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2; predom. solitarios	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Landenbergia lambertiana	Difusa	Sin patrón definido	Exclusivamente solitarios	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Psychotria berteroana	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-4 (-5); predom. múltiples	Simples; algunas escalariformes (una barra)	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
P. irwinii	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-5 (-8); predom. múltiples	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
P. poeppigiana	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2-5	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Ausentes
Remijia densiflora	Difusa	Sin patrón definido	Solitarios, múltiples radiales de 2 (-3)	Simples con algunas escalariformes (3-7 barras) y reticuladas	Alternas, circulares a ovaladas	Ausentes	Presentes

CUADRO 3. Características cuantitativas de los elementos xilemáticos de conducción e índices de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM) para especies de Rubiaceae en bosque húmedo tropical, seco tropical, pluvial montano y muy húmedo premontano.

ESPECIE	VASOS/mm^2	DIÁMETRO VASOS (µm)	DIÁMETRO PUNTEADURAS (µm)	LEV (µm)	IV, IM
BOSQUE HÚMEDO TROPICAL					
Amaioua corymbosa	17-33 (25)	(60) 81,8^{d} ± 12,279 (110) n = 50; CV = 15,01 %	(2,5) 2,812^{a} ± 0,555 (3,75) n = 20; CV = 17,74 %	(170) 430,9^{a} ± 118,05 (660) n = 50; CV = 27,4 %	3,272 1409,9
A. guianensis	32-57 (44,5)	(45) 67,3^{c} ± 12,28 (85) n = 50; CV = 18,25 %	(2,5) 3,375^{a,b} ± 0,588 (3,75) n = 20; CV = 17,42 %	(260) 507,7^{a,b,c} ± 117,43 (780) n = 50; CV = 23,13 %	1,512 767,8
Bertieria guianensis	56-70 (63)	(25) 39,9^{a} ± 5,1 (50) n = 50; CV = 12,78 %	(3,75) 4,141^{b,c} ± 0,598 (5) n = 16; CV = 14,44 %	(190) 713,4^{d} ± 274,56 (1450) n = 47; CV = 38,49 %	0,633 451,82
Chomelia venezuelensis	99	(45) 54,2^{b} ± 5,14 (65) n = 25; CV = 9,48 %	(3,75) 4,0^{b,c} ± 0,527 (5) n = 10; CV = 13,175 %	(220) 412,8^{a} ± 133,8 (770) n = 25; CV = 32,41 %	0,547 225,9
Genipa americana	19	(70) 89,4^{d} ± 10,34 (110) n = 25; CV = 11,57 %	(3,75) 4,75^{c,d} ± 0,791 (6,25) n = 10; CV = 16,65 %	(315) 487^{a,b} ± 105,06 (680) n = 25; CV = 21,57 %	4,705 2291,5
Guettarda elliptica	83	(45) 57,2^{b} ± 7,083 (75) n = 25; CV = 12,38 %	(3,75) 5,125^{d} ± 0,922 (6,25) n = 10; CV = 17,99 %	(170) 540,4^{a,b,c} ± 141,06 (740) n = 25; CV = 26,1 %	0,689 372,4
Pagamea panamensis	94	(30) 40,0^{a} ± 5,204 (50) n = 25; CV = 13,01 %	(3,75) 3,75^{a,b} ± 0,0 (3,75) n = 10; CV = 0,0 %	(265) 508,4^{a,b,c} ± 151,64 (795) n = 25; CV = 29,83 %	0,425 216,3
Rudgea crassiloba	106	(30) 38,8^{a} ± 4,848 (45) n = 25; CV = 12,49 %	(2,5) 3,375^{a,b} ± 0,604 (3,75) n = 10; CV = 17,9 %	(260) 542,2^{a,b,c} ± 109,91 (755) n = 25; CV = 20,27 %	0,366 198,5
R. hostmaniana	123	(35) 44,0^{a} ± 5,773 (55) n = 25; CV = 13,12 %	(2,5) 2,875^{a} ± 0,604 (3,75) n = 10; CV = 21,01 %	(345) 607^{b,c,d} ± 143,53 (875) n = 25; CV = 23,65 %	0,358 217,1
Warszewiczia coccinea	59	(55) 70,8^{c} ± 9,861 (95) n = 25; CV = 13,93 %	(2,5) 3,375^{a,b} ± 0,604 (3,75) n = 10; CV = 17,9 %	(410) 653^{c,d} ± 165,4 (940) n = 25; CV = 25,33 %	1,2 783,6
BOSQUE SECO TROPICAL					
Amaioua guianensis	48	(50) 61,8^{a} ± 7,199 (75) n = 25; CV = 11,65 %	(3,75) 4^{a} ± 0,527 (5) n = 10; CV = 13,175 %	(270) 520,6^{a,b} ± 103,54 (670) n = 25; CV = 19,89 %	1,287 670,3
Calycophyllum candidissimum	64-131 (97)	(45) 64,133^{a} ± 8,235 (85) n = 75; CV = 12,84 %	(2,5) 3,75^{a} ± 0,569 (5) n = 30; CV = 15,17 %	(205) 538,27^{b} ± 155,83 (860) n = 75; CV = 28,95 %	0,661 355,9
Genipa americana	30	(50) 63,8^{a} ± 8,93 (80) n = 25; CV = 13,997 %	(3,75) 4,875^{b} ± 0,71 (6,25) n = 10; CV = 14,56 %	(250) 433^{a} ± 120,86 (710) n = 25; CV = 27,91 %	2,127 920,8
BOSQUE PLUVIAL PREMONTANO					
Cinchona pubescens	22	(85) 118,2^{a} ± 16,449 (145) n = 25; CV = 13,92 %	(5) 5,625^{a} ± 0,659 (6,25) n = 10; CV = 11,71 %	(370) 631^{a} ± 177,86 (970) n = 25; CV = 28,19 %	5,373 3390,2
Guettarda crispiflora	23	(95) 124,8^{a} ± 22,476 (175) n = 25; CV = 18,01 %	(6,25) 6,675^{a} ± 0,59 (7,5) n = 10; CV = 8,84 %	(500) 706^{a} ± 144,17 (975) n = 25; CV = 20,42 %	5,426 3830,8
BOSQUE MUY HÚMEDO PREMONTANO					
Calycophyllum venezuelense	40	(70) 83,0^{d}± 9,879 (105) n = 25; CV = 11,9 %	(5) 5,5^{c} ± 0,645 (6,25) n = 10; CV = 11,73 %	(420) 689,2^{a,b} ± 139,99 (930) n = 25; CV = 20,31 %	2,075 1430,1
Cinchona pubescens	27	(65) 80,4^{d}± 12,576 (110) n = 25; CV = 15,64 %	(2,5) 3,375^{a}± 0,604 (3,75) n = 10; CV = 17,9 %	(340) 664,4^{a,b} ± 194,6 (1055) n = 25; CV = 29,29 %	2,978 1978,4
Cosmibuena grandiflora	11-17 (14)	(55) 83,5^{d} ± 16,389 (120) n = 50; CV = 19,63 %	(2,5) 3,687^{a,b} ± 0,949 (5) n = 20; CV = 25,74 %	(320) 567,4^{a} ± 173,38 (1170) n = 50; CV = 30,56 %	5,934 3384,1
Isertia hypoleuca	26	(70) 89,0^{d} ± 13,617 (125) n = 25; CV = 15,3 %	(3,75) 4,875^{c} ± 0,709 (6,25) n = 10; CV = 14,54 %	(270) 751^{b,c} ± 201,76 (1240) n = 25; CV = 26,86 %	3,423 2570,7
Landenbergia lambertiana	18	(55) 82,6^{d} ± 11,284 (100) n = 25; CV = 13,66 %	(5) 5,357^{c} ± 0,61 (6,25) n = 7; CV = 11,39 %	(330) 584,8^{a,b} ± 151,8 (1000) n = 25; CV = 25,96 %	4,589 2683,6
Psychotria berteroana	35	(40) 55,0^{b,c} ± 5,59 (65) n = 25; CV = 10,16 %	(3,75) 4,75^{b,c} ± 0,527 (5) n = 10; CV = 11,9 %	(350) 729,2^{a,b,c} ± 182,05 (1080) n = 25; CV = 24,97 %	1,571 1145,9
P. irwinii	59	(35) 45,2^{a,b} ± 5,299 (55) n = 25; CV = 11,72 %	(3,75) 3,75^{a,b} ± 0,0 (3,75) n = 10; CV = 0,0 %	(345) 877,4^{c} ± 253,18 (1400) n = 25; CV = 28,86 %	0,766 672,2
P. poeppigiana	187	(30) 39,6^{a} ± 4,77 (50) n = 25; CV = 12,04 %	(2,5) 3,25^{a} ± 0,645 (3,75) n = 10; CV = 19,85 %	(240) 626,87^{a,b} ± 168,26 (890) n = 24; CV = 26,84 %	0,212 132,7
Remijia densiflora	61	(40) 58,8^{c} ± 6,658 (75) n = 25; CV = 11,32 %	(3,75) 3,75^{a,b} ± 0,0 (3,75) n = 10; CV = 0,0 %	(455) 719,2^{a,b,c} ± 167,27 (1120) n = 25; CV = 23,26 %	0,964 693,3

NOTA: letras similares representan grupos estadísticamente similares de acuerdo a análisis de varianza y prueba de diferencia de medias (Tukey, α = 0,01).

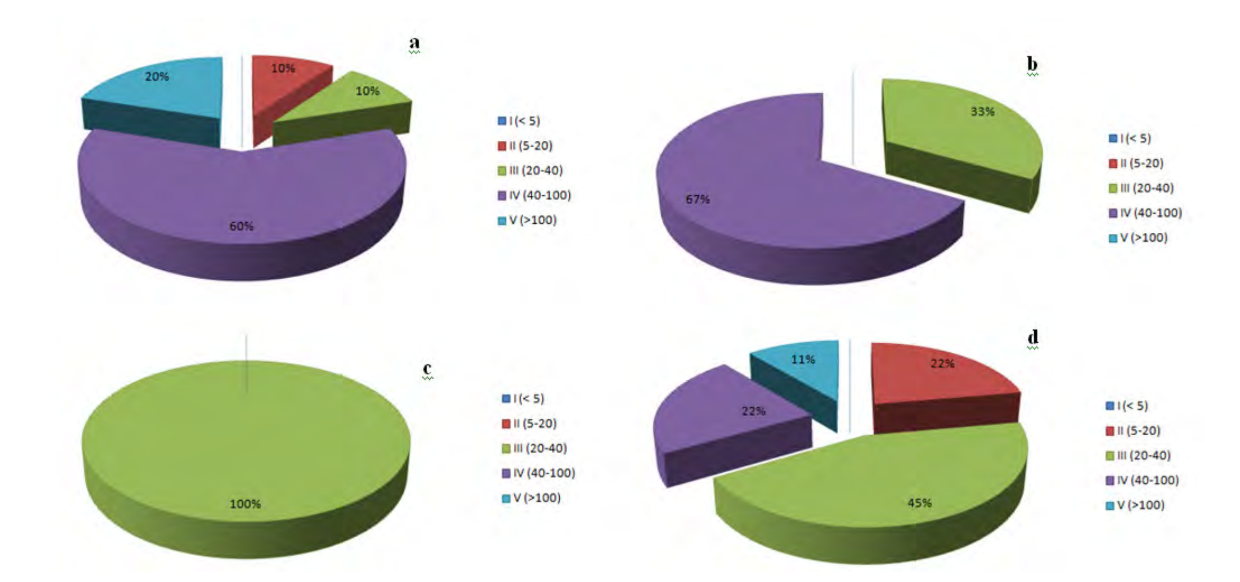


FIGURA 5. Distribución porcentual de frecuencia de vasos (vasos/mm^2) por categorías (IAWA Committee 1989) para especies de Rubiaceae en bosques húmedo tropical **(a)**, seco tropical **(b)**, pluvial premontano **(c)** y muy húmedo premontano **(d)**.

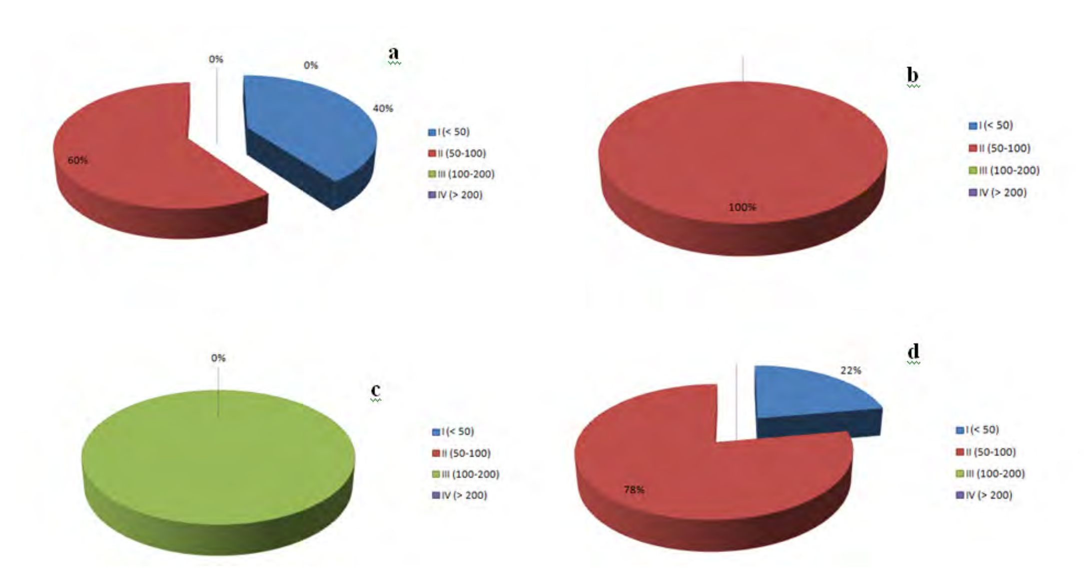


FIGURA 6. Distribución porcentual de diámetro de vasos (µm) por categorías (IAWA Committee 1989) para especies de Rubiaceae en bosques húmedo tropical **(a)**, seco tropical **(b)**, pluvial premontano **(c)** y muy húmedo premontano **(d)**.

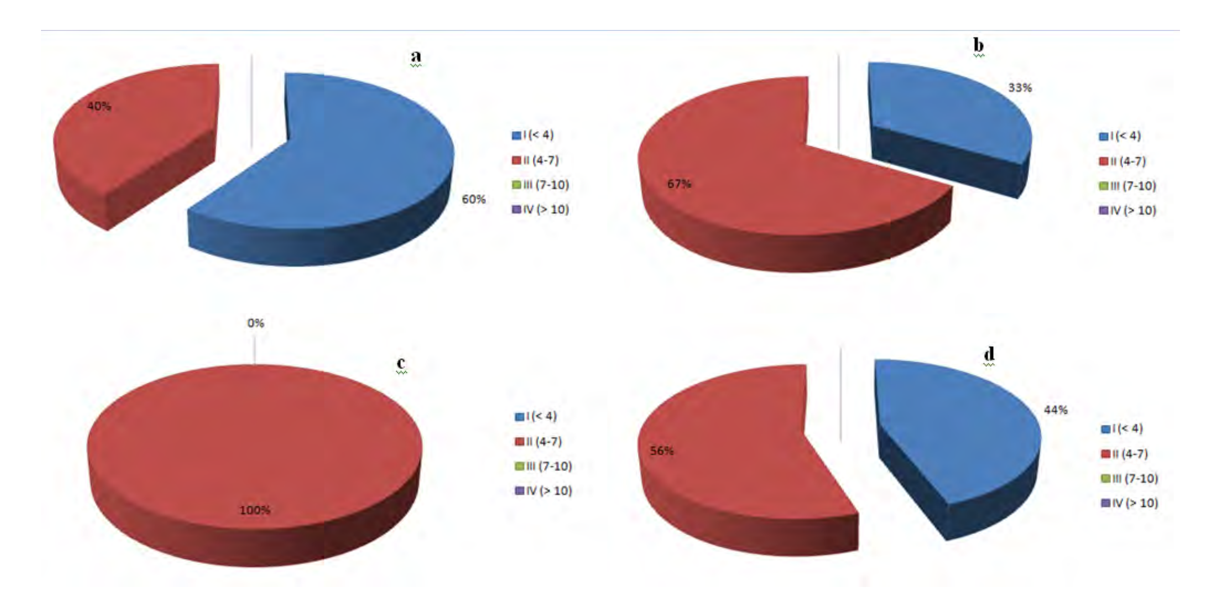


FIGURA 7. Distribución porcentual de diámetro de punteaduras (µm) por categorías (IAWA Committee 1989) para especies de Rubiaceae en bosques húmedo tropical **(a)**, seco tropical **(b)**, pluvial premontano **(c)** y muy húmedo premontano **(d)**.

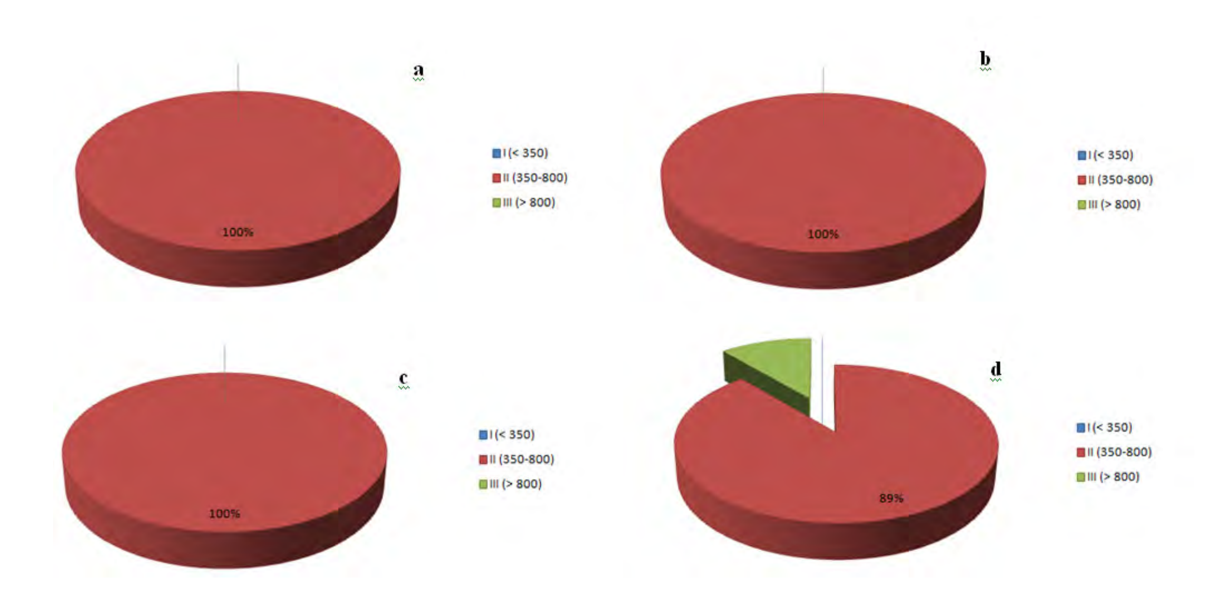


FIGURA 8. Distribución porcentual de longitud de elementos de los vasos (µm) por categorías (IAWA Committee 1989) para especies de Rubiaceae en bosques húmedo tropical **(a)**, seco tropical **(b)**, pluvial premontano **(c)** y muy húmedo premontano **(d)**.

premontano y bosque muy húmedo premontano; sin embargo en esta última zona de vida también se presentaron especies con bajos valores. Carlquist (1977) indica que IV < 1 son indicativos de un comportamiento altamente xeromórfico mientras que Scholz *et al.* (2013) señalaron que IV > 3 ya tienden a representar comportamiento mesomórfico. En la zona de vida de bosque húmedo tropical, el 60 % de las especies mostraron IV < 1 y sólo un 20 % mostró valores que indicaran tendencia a mesomorfismo (***FIGURA 9***), siendo el máximo valor el observado en *Genipa americana* (IV = 4,705). En general, el valor promedio de IV para esta zona de vida alcanzó el valor de 0,91. Para el bosque seco tropical, los valores de IV oscilaron entre 0,661 (*Calycophyllum candidissimum*) y 2,127 (*Genipa americana*) lo que indica comportamientos que van desde tendencia (IV > 1 y < 3) hasta un alto grado de xeromorfismo (IV < 1). El valor promedio se ubicó en 0,86. Para el bosque pluvial premontano se muestran comportamientos mesomórficos, con valores de IV que oscilaron entre 5,373 y 5,426. Por otra parte, el bosque muy húmedo premontano tuvo un comportamiento similar al bosque húmedo tropical en el sentido que se encontraron especies con alto grado de xeromorfismo (33,3 % de las especies), con tendencia al xeromorfismo (33,3 %) y especies mesomórficas (33,3 %) (***FIGURA 9***) con un valor promedio que señala tendencia a xeromorfismo (1,46).

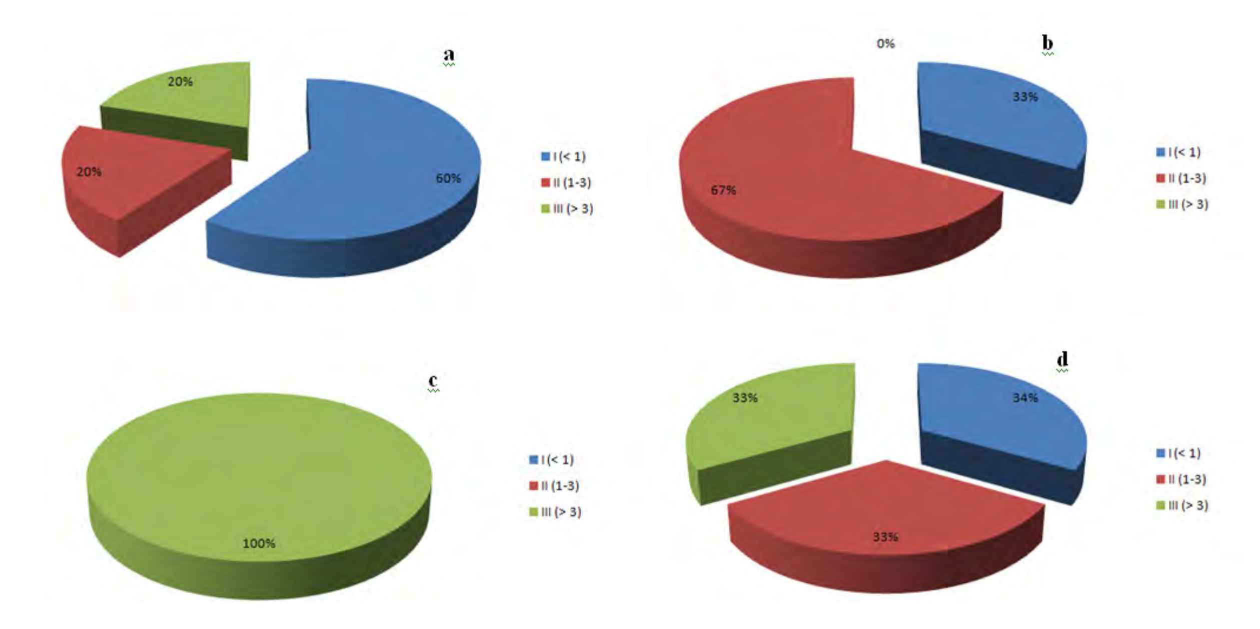


FIGURA 9. Distribución porcentual por categorías de índice de vulnerabilidad para especies de Rubiaceae en bosques húmedo tropical **(a)**, seco tropical **(b)**, pluvial premontano **(c)** y muy húmedo premontano **(d)**.

Los valores del índice de mesomorfía (IM) muestran comportamientos mesomórficos según lo indicado por Carlquist (1977) quien señala que IM < 75 refleja un alto grado de xeromorfismo mientras que IM > 200 corresponde a comportamiento mesomórfico. Todas las especies estudiadas mostró valores de IM > 200, con la excepción de *Rudgea crassiloba* (IM = 198,5). Tomando en consideración el valor promedio de IV e IM por zona de vida (***CUADRO 4***), los valores más bajos lo presentaron el bosque húmedo tropical y el bosque seco tropical, mientras que el valor más alto se observó en el bosque pluvial premontano. El bosque muy húmedo premontano presentó valores intermedios respecto a las otras zonas de vida. Al establecer comparaciones entre lo observado para especies de Rubiaceae (***CUADRO 4***) con el valor promedio encontrado para diferentes zonas de vida en Venezuela (***CUADRO 5***) se encontró que el comportamiento de Rubiaceae presentó, por lo general, una mayor frecuencia y menor diámetro de vasos, especialmente en lo correspondiente al bosque húmedo y seco tropical. La frecuencia de vasos de Rubiaceae se incrementa con respecto al promedio general de bosque húmedo y seco tropical 5,25 y 7,22 veces respectivamente; mientras que el diámetro de vasos disminuye, para esas mismas zonas de vida, en 2,6 y 2,29 veces. Ese incremento en frecuencia y disminución en diámetro de vasos también se manifiesta en reducciones del índice de vulnerabilidad. En general, para los bosques húmedo y seco tropical, el IV alcanzó valores aproximados de 46 mientras que Rubiaceae en esas zonas de vida tiene valores de 0,86-0,91; es decir que mientras la mayoría de las especies de los bosques húmedo y seco tropical desarrollan un comportamiento claramente mesomórfico; los

CUADRO 4. Valores promedio de frecuencia y diámetro de vasos, diámetro de punteaduras, longitud de elementos de los vasos (LEV) e índices de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM) para especies de Rubiaceae en cuatro zonas de vida de Venezuela.

ZONA DE VIDA	VASOS/ mm^2	DIÁMETRO VASOS (µm)	DIÁMETRO PUNTEADURAS (µm)	LEV (µm)	IV, IM
Bosque húmedo tropical	65,23	(25) $59,415^{a}$ ± 19,384 (110) n = 325; CV = 32,62 %	(2,5) $3,671^{a}$ ± 0,918 (6,25) n = 126; CV = 25,01 %	(170) $541,09^{a}$ ± 180,31 (1450) n = 322; CV = 33,23 %	0,91 492,85
Bosque seco tropical	73,8	(45) $63,6^{a,b}$ ± 8,171 (85) n = 125; CV = 12,85 %	(2,5) $4,025^{a}$ ± 0,727 (6,25) n = 50; CV = 18,06 %	(205) $513,68^{a}$ ± 145,19 (860) n = 125; CV = 28,26 %	0,86 442,68
Bosque pluvial premontano	22,5	(65) $121,5^{c}$ ± 19,775 (175) n = 50; CV = 16,27 %	(5) $6,15^{b}$ ± 0,813 (7,5) n = 20; CV = 13,22 %	(370) $668,5^{b}$ ± 164,65 (975) n = 50; CV = 24,63 %	5,4 3609,9
Bosque muy húmedo premontano	48,1	(30) $70,06^{a,b}$ ± 20,64 (125) n = 250; CV = 29,46 %	(2,5) $4,162^{a}$ ± 1,0 (6,25) n = 97; CV = 24,03 %	(240) $677,89^{b}$ ± 202,54 (1400) n = 249; CV = 29,88 %	1,46 987,38

NOTA: letras similares representan grupos estadísticamente similares de acuerdo a análisis de varianza y prueba de diferencia de medias (Tukey, $\alpha = 0,01$).

CUADRO 5. Valores promedio de frecuencia y diámetro de vasos, longitud de elementos de los vasos (LEV) e índices de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM) para seis zonas de vida de Venezuela.

ZONA DE VIDA	VASOS/mm^2	DIÁMETRO VASOS (µm)	LEV (µm)	IV, IM
Bht *	12,42	154,62	443,4	45,96 18786,74
Bst**	10,22	145,72	404,82	45,95 20914,2
Bmst***	66,79	57,95	255,53	1,31 308,81
Bpm****	17,39	124,04	696,89	15,6 8252,29
Bst-Bht*****	17,26	135,49	387,07	25,48 9462,96
Bht-Bhp*****	19,46	112,21	535,32	13,49 6233,38

*Bosque húmedo tropical, Reserva Forestal Ticoporo, Barinas, Venezuela (León 2013). **Bosque seco tropical, El Caimital, Barinas Venezuela (León 2005). ***Bosque muy seco tropical, Mamo, Miranda, Venezuela (Lindorf 1994). ****Bosque pluvial montano, La Mucuy, Mérida, Venezuela (Pérez 1989). *****Transición bosque seco tropical-bosque húmedo tropical, Caparo, Barinas, Venezuela (León 2014). ***** Transición bosque húmedo tropical-bosque húmedo premontano, El Dorado-Santa Elena de Uairén, Bolívar, Venezuela (León 2016).

representantes de Rubiaceae muestran un alto grado de xeromorfismo y su comportamiento se asemeja más al que muestran las especies del bosque muy seco tropical ***(CUADRO 5)***. Con respecto al bosque pluvial premontano, Rubiaceae tiene un incremento de 1,29 veces en la frecuencia de poros con respecto al comportamiento general de esa zona de vida ***(CUADRO 5)*** y mantiene valores similares en cuanto a diámetro de poros y aunque se observa una reducción del índice de vulnerabilidad en 2,89 veces, el comportamiento manifiesta similitudes en su orientación al mesomorfismo.

Tomando en consideración los valores obtenidos para diferentes zonas de vida en Venezuela, el comportamiento de Rubiaceae se acerca a los valores promedio de bosque muy seco tropical reportados por Lindorf (1994). Esto indica que las especies de la familia Rubiaceae, aun cuando se desarrollen en áreas con una alta disponibilidad de humedad, para garantizar su establecimiento requieren de un sistema de conducción con características que garantizan la seguridad en el movimiento de agua y sales minerales y para ello muestran tendencia a una alta frecuencia de vasos, diámetro reducido, alta agrupación, punteaduras pequeñas a diminutas y algunas veces lo complementan con el desarrollo de estructuras especiales como células radiales perforadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. & V. ANGYALOSSY-ALFONSO. 2000. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. I.Growth ring and vessels. *IAWA J.* 21: 3-30.

BAAS, P. & F. SCHWEINGRUBER. 1987. Ecological trends in the wood anatomy of trees, shrubs and climbers from Europe. *IAWA Bull. n.s.* 8: 245-274.

BALDIN, T., J. CARDOSO. 2015. Anatomia da madeira de ***Calycophyllum candidissimum*** (Vahl) DC. (Rubiaceae). Balduinia 48: 23-28. doi: 10.5902/2358198018008

BARROS, C., M. MARCON-FERREIRA, C. CALLADO, H.PINTO LIMA, M. DA CUNHA, O. MARQUETE & C. GONCALVES. 2006. Tendencias ecológicas na anatomia da madeira de espécies da comunidade arbórea da reserva biológica de Poco Das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57: 443-460.

CARLQUIST, S. 1977. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. *Amer. J . Bot.* 64: 887-896.

CARLQUIST, S. 2001. *Comparative wood anatomy*. Springer Verlag. 2[da] edición. New York, USA. 448 p.

CARLQUIST, S. & D. HOEKMAN. 1985. Ecological Wood anatomy of the woody southern californian flora. *IAWA Bull.* n.s. 6: 319-347.

EWEL, J., A. MADRIZ & J. TOSI. 1976. *Zonas de vida de Venezuela*. Ministerio de Agricultura y Cría. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas, Venezuela. 270 p.

EWERS, F. 1985. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees and lianas. *IAWA Bull.* n.s. 6: 309-317.

IAWA COMMITTEE. 1989. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bull.* 10: 220-332.

JANSEN, S., E. ROBBRECHT, H. BEECKMAN & E. SMETS. 2002. A survey of the systematic wood anatomy of the Rubiaceae. *IAWA J.* 23:1-67.

KOEK-NOORMAN, J. 1969a. A contribution to the wood anatomy of South America (chiefly Suriname) Rubiaceae I. *Acta Bot. Neerl.* 18: 108-123.

KOEK-NOORMAN, J. 1969b. A contribution to the wood anatomy of South America (chiefly Suriname) Rubiaceae II. *Acta Bot. Neerl.* 18: 316-334.

KOEK-NOORMAN, J. 1970. A contribution to the wood anatomy of the Cinchoneae, Coptosapelteae and Naucleeae (Rubiaceae). *Acta Bot. Neerl.* 19: 154-164.

LENS, F., S. JANSEN, E. ROBBRECHT & E. SMETS. 2000. Wood anatomy of the Vanguerieae (Ixoroideae-Rubiaceae), with special emphasis on some geofrutices. *IAWA J.* 21: 443-455.

LEÓN H., W. 2005. Anatomía ecológica del xilema secundario de un bosque seco tropical de Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 28: 257-274.

LEÓN H., W. 2011. Anatomía de la madera de 31 especies de la familia Rubiaceae en Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 34: 347-379.

LEÓN H., W. 2013. Ecoanatomía de la madera en un bosque húmedo tropical de la Reserva Forestal Ticoporo (Barinas, Venezuela*). Rev. Forest. Venez.* 57: 115-129.

LEÓN H., W. 2014. Elementos xilemáticos de conducción en 69 especies leñosas de la Reserva Forestal Caparo (Barinas, Venezuela). *Acta Bot. Venez.* 37: 91-121.

LEÓN H., W. 2016. Caracterización de elementos xilemáticos de conducción de 40 especies de El Dorado-Santa Elena de Uairén, estado Bolívar, Venezuela. *Pittieria* 40: 28-53.

LINDORF, H. 1994. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. *IAWA J.* 15: 361-376.

PÉREZ M., A. 1989. Caracterización ecoanatómica del leño de 40 especies del bosque La Mucuy, estado Mérida, Venezuela. *Rev. Fores. Venez.* 33: 43-51.

SCHOLZ, A., M. KLEPSCH, Z. KARIMI & S. JANSEN. 2013. How to quantify conduits in wood? *Front. Plant Sci.* 4:56. doi: 10.3389/fpls.2013.00056.

TAYLOR, C. 2005. Rubiaceae. In: *Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela*. (O. Hokche, P. Berry & T. Lasser, eds.), pp. 576-597. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. Caracas, Venezuela.

TAYLOR, C., J. STEYERMARK, P. DELPRETE, A. VINCENTINI, R. CORTÉS, D. ZAPPI, C. PERSSON, C. BESTETTI & E. ARAUJO DA ANUNCIACAO. 2008. Rubiaceae. In: *Flora of the Venezuelan Guayana Volume 8: Poaceae-Rubiaceae*. (P. Berry, K. Yatskievych & B. Holst, eds.), pp. 497-847. Missouri Botancal Garde. St. Louis, USA.

VEILLON, J.1994. *Especies forestales autóctonas de los bosques naturales de Venezuela*. Instituto Forestal latinoamericano.2da edición. Mérida, Venezuela. 226 p.

ISSN(e) 2244-8888



41
ENERO-DICIEMBRE 2017
págs. 162—170

PRIMER REPORTE DE *IRENOPSIS MELOTHRIAE*, R.E.D. BAKER & W.T. DALE, SOBRE *MELOTHRIA TRILOBATA* COGN., EN VENEZUELA

FIRST REPORT OF *IRENOPSIS MELOTHRIAE* RED BAKER & W.T. DALE ON *MELOTHRIA TRILOBATA* COGN., IN VENEZUELA

por

MILAGROS ARAUJO[1]
DIEGO DIAMONT[1]
MARÍA EUGENIA PAEZ[2]
YELITZA HURTADO[1]

1 Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas,
Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
2 Ministerio del Poder Popular para Ecosocialismo, Hábitat y Vivienda,
Maracay, estado Aragua, Venezuela.
miaraujogonzalez@gmail.com

RECIBIDO: marzo 22 de 2017 / **ACEPTADO:** diciembre 08 de 2017

RESUMEN

Se analizó muestra foliar colectada en Urama estado Carabobo, Venezuela, para estudio e identificación micológica sobre *Melotria trilobata* Cong., con la finalidad de ingresar a la colección del Herbario Micológico "Albert S. Muller" (VIA). Se tomaron porciones de hojas del hospedero donde se observaron colonias superficiales formando micelio reticular de color negro. Se realizaron cortes a mano alzada e impresiones con cinta engomada transparente, los tejidos se tiñeron con lactofucsina y se montaron en láminas semipermanentes. Las observaciones y mediciones de las estructuras fúngicas se realizaron con un ocular con reglilla micrométrica acoplado a un microscopio óptico de luz, marca Zeiss. Las observaciones microscópicas permitieron observar micelio de hifas marrón, sinuoso, de ramificación opuesta, con apresorios alternos, capitados y unilaterales, la célula basal cilíndrica, subglobosa a ovada. Fiálides opuestas ampuliformes, peritecios dispersos marrón oscuro, globosos, verrugosos, las setas periteciales marrón claro en forma de gancho y obtusas, de 2 a 7 setas por peritecio, las ascas marrón pálido, elipsoidales, de 4 septos cada una, constreñidas en los tabiques. La identificación se realizó con base a la descripción de *Irenopsis trilobata* hecha por R. E. D. Baker y W. T. Dale, 1951. Esta especie no había sido señalada en Venezuela, por lo cual se refiere el primer reporte para el país.

PALABRAS CLAVE: Ascomycota, cucurbitaceae, herbario, hongo.

ABSTRACT

Sample of leaf collected in Urama Carabobo State, Venezuela, was used to study and identify mycological on *Melotria trilobata* Cong., with the purpose to enter to the collection of the "Albert S. Muller" (VIA) mycological herbarium. Portions of leaves of the host were taken where superficial colonies were observed forming black reticular mycelium. Freehand cuts and prints with transparent tape were made, the tissues stained with lactofucsin and mounted on semipermanent slide. Measurements of the fungal structures were taken with a micrometric ocular coupled to a light microscope. Microscopic observations made it possible to observe mycelium of brown hyphae, sinuous, opposite ramification, with appressors alternating, capitate and unilateral, the basal cell cylindrical, subglobosa to ovate. Opposite phialides, ampuliform, dark brown, globular, scattered perithecia, peritecial setae, light brown, hooked and obtuse, 2 to 7 setae per perithecia, pale brown, ellipsoidal, 4 setae per peritecial, constricted in the walls. The identification was made based on the description of *Irenopsis trilobata* made by R. E. Baker and W. T. Dale 1951. This species has not been identified in Venezuela, which is the first report for the country.

KEY WORDS: Ascomycota, cucurbitaceae, herbarium, fungi.

INTRODUCCIÓN

La familia *Cucurbitaceae* constituye un grupo de plantas muy importante desde el punto de vista económico, nutricional, medicinal y cultural. Algunas de sus especies, como por ejemplo *Cucurbita máxima* y *Fevillea cordifolia* (Wilbert 1996), se emplean en la medicina popular para el tratamiento de diferentes enfermedades debido a las diversas propiedades farmacológicas que poseen. Otras especies cultivadas o silvestres de esta familia constituyen una parte fundamental de la dieta de seres humanos y de animales en algunos países durante todo el año, y se consumen como alimentos frescos, cocidos o en encurtidos (Salama 2006).

Melothria trilobata Cogn. in Mart., Fl. Bras. 6(4): 26. 1878, pertenece a la familia Cucurbitaceae. Es una planta trepadora o rastrera, con tallo glabro o piloso, hojas ovado-cordadas, palmeadas 3-7 lobuladas, híspido-escabrosas, denticuladas marginalmente; zarcillos simples; flores amarillas en racimos axilares; fruto ovoide-elipsoidal, ápice redondeado, verde pálido con máculas o amarillo-rojizo; semillas ovadas, finamente estriadas, blancuzcas. Distribución: Desde el sur de México hasta Colombia, Trinidad, Guyana, Surinam y norte de Brasil, en Venezuela se presenta con una amplia distribución. Nombre común: Patilla (Delascio & López, 2007).

Es importante señalar que el estudio de la micobiota asociada a las plantas representa aportes desde el punto de vista económico y biológico. Las enfermedades causadas por hongos de la familia Meliolaceae no representan mucha importancia desde el punto de vista agrícola. Sin embargo, tomando en cuenta su presencia en cucurbitáceas cuya familia agrupa cultivos de importancia agrícola dentro de las hortalizas, su estudio puede ser significativo en términos agronómicos y de biodiversidad.

El Género *Irenopsis*, está constituido por 162 especies, incluidas dentro del Phylum Ascomycota, orden Meliolales, familia Meliolaceae. Esta familia agrupa hongos epifitos, eminentemente tropicales que viven como parásitos superficiales de las células epidérmicas de las plantas, en algunos casos muestran cierto grado de especificidad, forman un micelio superficial negro que forma una película sobre las hojas o tallos de la planta huésped. Las estructuras de estos organismos tienen apariencia de manchas circulares negras que pueden hacerse confluentes y constituyen el fenómeno conocido como moho fuliginoso o "black mildew" (Rodríguez & Camino, 1986).

Según Minter *et al.,* 2001, se reportan 45 especies del género *Irenopsis* en el Caribe:

Irenopsis aciculosa (G. Winter) F. Stevens 1927, Cuba, Jamaica, Puerto Rico, Trinidad & Tobago.
Irenopsis arimensis Hansf. 1957, Jamaica, Trinidad & Tobago.
Irenopsis banisteriae Hansf. 1957, Cuba, Puerto Rico.
Irenopsis brasiliensis (Speg.) Hansf. 1961, Trinidad & Tobago.
Irenopsis casearina Hansf. 1957, Puerto Rico
Irenopsis chaethachna (Cif.) Hansf. 1961, Cuba, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis chamaecristicola (F. Stevens) F. Stevens 1927, Puerto Rico.
Irenopsis chiococcae (F. Stevens) F. Stevens 1927, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis ciferriana (Petr.) Hansf. 1961, República Dominicana.
Irenopsis circinata Hansf. 1957, Trinidad & Tobago.
Irenopsis clidemiae (F. Stevens) Hansf. 1961, República Dominicana, Trinidad & Tobago.
Irenopsis comocladiae (F. Stevens) F. Stevens 1927, Cuba, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis coronata (Speg.) F. Stevens 1927, República Dominicana.
Irenopsis costaricensis F. Stevens 1927, Cuba.
Irenopsis crotonis (F. Stevens & Tehon) F. Stevens 1926, Trinidad & Tobago.
Irenopsis cryptocarpa (Ellis & G. Martin) Hansf. 1961, Puerto Rico.
Irenopsis cupaniae (F. Stevens) F. Stevens 1927, Cuba, Puerto Rico.
Irenopsis ekmanii (Cif.) Hansf. 1961, República Dominicana.
Irenopsis guianensis (F. Stevens & R.I. Dowell) F. Stevens 1927, Trinidad & Tobago.
Irenopsis guignardii (Gaillard) F. Stevens 1927, República Dominicana.
Irenopsis laevis (Berk. & M.A. Curtis) Hansf. 1955, Cuba
Irenopsis marcgraviae (Tehon) Hansf. 1961; República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis maricaensis (F. Stevens) F. Stevens 1927, Puerto Rico.
Irenopsis martynii Hansf. 1957, Jamaica.
Irenopsis melothriae R.E.D. Baker & W.T. Dale 1951, Trinidad & Tobago.
Irenopsis miconiae (F. Stevens) F. Stevens 1927, Cuba, República Dominicana, Puerto Rico, Trinidad & Tobago.
Irenopsis miconiicola (F. Stevens) F. Stevens 1927, Puerto Rico.
Irenopsis molleriana (G. Winter) F. Stevens 1927, Cuba, República Dominicana, Jamaica, Puerto Rico.
Irenopsis myrciae Hansf. 1955, Puerto Rico.
Irenopsis ocoteae (F. Stevens) F. Stevens 1927, Puerto Rico.
Irenopsis omphaleae Hansf. 1955, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis portoricensis F. Stevens 1927, Cuba, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis pteridicola (F. Stevens) Hansf. 1955, Cuba, República Dominicana, Jamaica, Puerto Rico, Trinidad & Tobago.
Irenopsis rectangularis (F. Stevens) F. Stevens 1927, Puerto Rico.
Irenopsis selaginellarum (Cif.) Hansf. 1961, República Dominicana.
Irenopsis seyboensis (Cif.) Hansf. 1961, República Dominicana.
Irenopsis shropshiriana (F. Stevens) Hansf. 1961, Cuba, Trinidad & Tobago.
Irenopsis stuhlmanniana (Henn.) Hansf. 1957, República Dominicana.
Irenopsis tehoniana (Trotter) Hansf. 1961, Cuba, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis tenuissima (F. Stevens) F. Stevens 1927, República Dominicana, Puerto Rico.
Irenopsis tortuosa (G. Winter) F. Stevens 1927, República Dominicana, Puerto Rico, Trinidad & Tobago.
Irenopsis toruloidea (F. Stevens) F. Stevens 1927, Cuba, Puerto Rico, Trinidad & Tobago
Irenopsis triumfettae (F. Stevens) Hansf. & Deighton 1948, República Dominicana, Jamaica, Puerto Rico, Trinidad & Tobago.

Irenopsis varroniae (Deighton) Hansf. 1961, Puerto Rico.

Irenopsis wrightii (Berk. & M.A. Curtis) Hansf. 1955, Cuba República Dominicana.

En el caso particular de Venezuela, se han señalado 17 especies del género *Irenopsis*

Irenopsis anastomosans (Wint.) Toro ap. Chardon et Toro 1934, Mycol. Explor. Venezuela, Monogr. Univers. Puerto Rico, Ser. B, Nr.2, p. 114.

Irenopsis bignoniacearum Stevens, Toro ap. Chardon et Toro 1934, Mycol. Explor. Venezuela, Monogr. Univers. Puerto Rico, Ser. B, Nr.2, p. 114.

Irenopsis comocladiae (Stev.) Stev.,, Toro ap. Chardon et Toro 1934, Mycol. Explor. Venezuela, Monogr. Univers. Puerto Rico, Ser. B, Nr.2, p. 114.

Irenopsis guianensis (Stev. & Dow.) Stev. Toro ap. Chardon et Toro 1934, Mycol. Explor. Venezuela, Monogr. Univers. Puerto Rico, Ser. B, Nr.2, p. 114.

Irenopsis pittieri Toro ap. Chardon et Toro 1934, Mycol. Explor. Venezuela, Monogr. Univers. Puerto Rico, Ser. B, Nr.2, p. 114.- *In foliis vivis Durantae repens,* Venezuela.

Irenopsis tortuosa (Wint.) Stev. Sobre *Photomorphe peltata* (L.) Miq. estado Yaracuy, Venezuela. Urtiaga Radamés. (1986). Índice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba.

Irenopsis trompilliana Toro ap. Chardon et Toro 1934, L.c. p. 116. - *In foliis vivis Mimosaceae*, Venezuela.

Irenopsis wrightii (B. & C.) Hansf. Sobre *Cupania americana* L. estado Lara, Venezuela. Urtiaga Radamés. (1986). Indice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba.

Irenopsis brasiliensis (Speg.) Hansf. 1932 (Aug). Carabobo. Sobre: *Arrabidaea* sp. (leaf). Chardón & Toro (1934) page(s) 114.

Irenopsis cupaniae (F. Stevens) F. Stevens. Venezuela. Sobre: *Cupania americana*.. Dennis (1970) pag 255.

Irenopsis hurae (Syd.) Hansf. Venezuela. Sobre: *Hura crepitans* (leaf). Dennis (1970) page(s) 246; Hansford (1961) page(s) 207-208.

Irenopsis molleriana (G. Winter) F. Stevens. Venezuela. Sobre: *Abutilon* sp. (leaf); *Malache ovata*; *Malache sessiliflora*; Malvaceae gen. indet. Dennis (1970) page(s) 250; Hansford (1961) page(s) 184.

Irenopsis pteridicola (F. Stevens) Hansf. Venezuela. Sobre: *Adiantum petiolatum*; *Anemia* sp.; *Lygodium polymorphum*; *Lygodium radiatum*. Dennis (1970) page(s) 259.

Irenopsis shropshiriana (F. Stevens) Hansf. Venezuela. Sobre: *Miconia acinodendron*; *Miconia argentea.* Dennis (1970) page(s) 251.

Irenopsis toruloidea (F. Stevens) F. Stevens. Venezuela. Sobre: *Cassia baccilaris*; *Cassia pilifera*. Dennis (1970) page(s) 248.

Irenopsis triumfettae (F. Stevens) Hansf. & Deighton. Venezuela. Sobre: *Luehea speciosa*; *Triumfetta lappula*. Dennis (1970) page(s) 257.

Irenopsis wrightii (Berk. & M.A. Curtis) Hansf. Venezuela. Lara. Sobre:. *Cupania americana* (leaf). Urtiaga (1986) page(s) 140.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron porciones del material herborizado para el estudio e identificación del hongo sobre hojas de *Melotria trilobata* y su posterior ingreso al Herbario Micológico “Albert S. Muller” (VIA). La planta fue colectada en Urama estado Carabobo, Venezuela. Para la identificación del especímen se realizaron impresiones con cinta engomada transparente y cortes transversales a mano alzada, luego se hicieron montajes en láminas semipermanentes, usando como colorante lactofucsina. Las observaciones y mediciones de las estructuras fúngicas se realizaron, utilizando un ocular con reglilla micrométrica acoplado a un microscopio óptico de luz marca Zeiss®, con aumentos de 100X y 400X. Los preparados macro y microscópicos se fotografiaron con cámara digital marca Leica® acoplada al microscopio modelo Leica DM1000. El espécimen en estudio, se comparó con las muestras depositadas en el Herbario Micológico “Albert S. Muller” (VIA).

Revisión de especímenes depositados en el Herbario VIA:

VIA 2125. *Irenopsis molleriana* (G. Winter) F. Stevens; sobre *Abutilon* **(MLV),** colectada en **Los Teques, estado Miranda,** Colector: **Albert S. Muller**

VIA 3664. *Irenopsis pittieri* Toro; sobre *Duranta repens* L**. (VRB),** colectada en **San Antonio de los Altos, estado Miranda,** Colector: **M.F. Barrus, A. S. Mull.**

VIA 7091. *Irenopsis* sp. sobre *Coccoloba pittieri* **(PLG),** colectada en **Carora, estado Lara.** Colector: **Radamés Urtiaga**

DESCRIPCIÓN DEL ESPÉCIMEN TIPO

FUNGI OF TRINIDAD AND TOBAGO

By R. E. D. BAKER and W. T. DALE

Imperial College of Tropical Agriculture

Irenopsis melothriae

Plagulae epiphyllae, atrae, ad 2 - 5 mm diam. Mycelium ex hyphis brunneis, sinuosis, 5 - 8 micras cr. (cellulis 22 - 35 micras longis), plerumque opposite ramosis (50 - 60o), reticulatis compositum. Hyphopodia capitata alternata vel unilateralia, 14 - 22 micras longa; cellula basali 4 - 7 micras, cylindracea; cellula apicali subglobosa vel ovata, integra, recta vel rarius recurvata, 12 - 16 x 10 - 14 micras. Hyphopodia mucronata numerosa, plerumque opposita, ampullacea, 14 - 22 x 6 - 8 micras, collo 3 micras cr. Setae myceliales nullae. Perithecia dispersa, atra, globosa usque ad 175 micras diam., verrucosa, sursum setis 2 - 7, brunneis, continuis, uncinatis, obtusis, usque ad 90 x 4 micras ornata. Sporae pallide brunneae, ellipsoideae, 4 - septatae, constrictae, 33-40 x 13 - 16 micras.

Hab. in foliis Melothriae trilobatae, Trinidad, La Seiva valley, 5 iv 1946, Baker, I.C.T.A. 997 (typus); Arima - Blanchisseuse rd. 11.iii.1945, I.C.T.A. 497, and 17.viii 1947, I.C.T.A. 1547

Bibliography: Baker, R.E.D.; Dale, W.T. 1951. Fungi of Trinidad and Tobago. *Mycological Papers*. 33:1-123

Rank: sp.

Authors: R.E.D. Baker & W.T. Dale

Year of publication: 1951

Checked : No
MycoBank # : 299082
Name set : Index Fungorum
Page # : 11
Type specimen or ex type : Specimen record #140265

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Macroscópicamente, se observaron colonias superficiales negras sobre la hoja *(FIG. 1A)*, micelio reticular *(FIG. 1B)* y peritecios con setas periteciales *(FIG. 1C)*. Microscópicamente, se observó micelio marrón, sinuoso, septado de 25,8-42,3 µm de largo entre septos, de ramificación opuesta, complejo reticular, fiálides opuestas ampuliformes de 11,75-16,45 x 4,7-7,0 µm *(FIG. 2A)*. Apresorios alternos y unilaterales de 9,4 x 11,75-11,75 x 14,10 µm, la célula basal cilíndrica, subglobosa a ovada *(FIG 2B)*. Peritecios dispersos, marrón oscuro, globosos, verrugosos, desde 75,2 hasta 157,4 µm *(FIG. 3A)*. Setas periteciales marrón claro, en forma de gancho y obtusas, desde 86,9 hasta 157,4 µm, de 2 a 7 setas por peritecios *(FIG. 3B)*. Ascosporas marrón pálido, elipsoidales, de 4 septos cada una, largo desde 32,9-39,9 µm *(FIG. 4)*.

La presencia de setas periteciales o ascomáticas, es el carácter principal de valor taxonómico del género *Irenopsis*, estas estructuras marrón claro en forma de gancho y obtusas, son características del peritecio de esta especie. En este sentido, se han reportado diferencias con las setas observadas en el micelio de hongos del género *Meliola* (Hansford 1961; Hosagoudar & Archna, 2009; Macedo *et al*., 2010; Pinho *et al*., 2012; Pinho *et al*., 2014; Soares y Dianese, 2014), y con los apéndices espesos y recurvados presentes en especies de *Apendiculella* (Batista et al., 1956, Batista & Maia, 1957, Batista et al., 1960). Las observaciones microscópicas realizadas permitieron detectar estructuras periteciales, setas y ascosporas que concuerdan con las descritas para *Irenopsis trilobata* por Baker y Dale 1951.

CONCLUSIONES

- Las características morfológicas observadas en la muestra corresponden a las descritas para el espécimen Tipo, publicado por R. E. D. Baker y W. T. Dale (1951) en Trinidad y Tobago.
- Basados en la revisión bibliográfica y estudios sobre los reportes de especies del género, y específicamente de esta especie, se hace el primer señalamiento de *Irenopsis melothriae* R. E. D. Baker & W. T. Dale, para Venezuela.
- Una vez identificado el espécimen como *Irenopsis melothriae*, se procedió a darle ingreso al Herbario Micológico con el número VIA 9362.



FIGURA 1. Colonias superficiales de *Irenopsis melothriae* sobre hojas de *Melothria trilobata* Cogn **[A]**. Se detallan micelio reticular **[B]** y setas periteciales **[C]**.

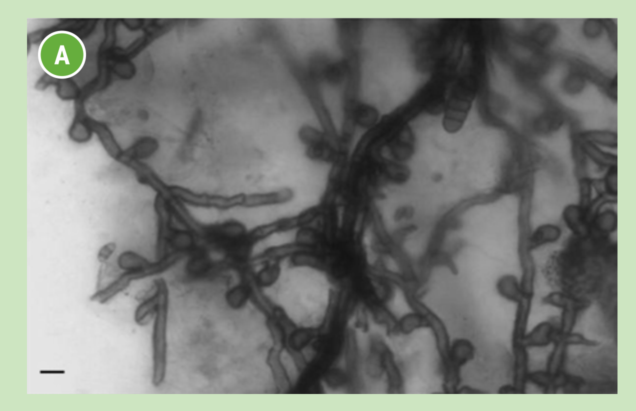




FIGURA 2. Micelio *Irenopsis melothriae* mostrando hifas con ramificación opuesta **[A]** y apresorios alternos y unilaterales **[B]** (Escala = 15 µm).

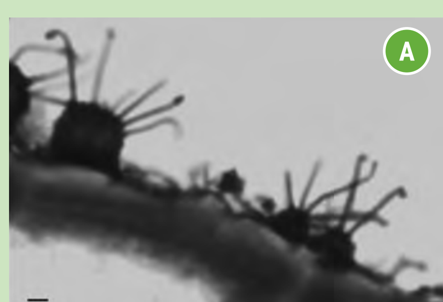




FIGURA 3. Micelio de *Irenopsis melothriae* mostrando peritecios dispersos **[A]** y setas periteciales **[B]** (Escala = 15 µm).

FIGURA 4. Observación microscópica de ascosporas de *Irenopsis melothriae* sobre *Melothria trilobata* Cogn (Escala = 20 µm).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, R. E. D. & W.T. DALE. 1951. Fungi of Trinidad and Tobago. *Mycological papers* 33: 11.

CHARDÓN, C.E. & R.A. TORO. 1934. *Mycological explorations of Venezuela*. 2: 114-116.

DELASCIO CHITTY, FRANCISCO & REYES LÓPEZ (2007). Las Cucurbitáceas del estado Cojedes, Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, vol. 30 No. 1.

HANLIN R. T. 1990. *Illustrated Genera of Asomycetes. American Phytopathological Society Press*. St. Paul, Minn. 263 pp.

HANSFORD, C.G. 1961. The Meliolinae - a monograph. *Beihefte Sydowia*, 2: 806 p.

HOSAGOUDAR VB, ARCHNA GR. 2009. Host range of meliolaceous fungi in India. *Journal Threatened Taxa*, 1: 269-282.

INDEX FUNGORUM. 2016. Disponible en: www.indexfungorum.org. Consultado: febrero 2016.

MACEDO DM, PINHO DB, BARRETO RW, CUDA JP, PEREIRA OL. 2010. Black mildew fungi (Meliolaceae) associated with *Schinus terebinthifolius* (Brazilian pepper tree) in Brazil. *Mycotaxon*, 114: 429-437.

MINTER, D. W.; H. M. RODRÍGUEZ; P. J. MENA. 2001. Fungi of the Caribbean.

PINHO DB, PEREIRA OL, FIRMINO AL, SILVA M, FERREIRA-JUNIOR WG, BARRETO RW. 2012. New Meliolaceae from the Brazilian Atlantic Forest 1. Species on hosts in the families Asteraceae, Burseraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae and Sapindaceae. *Mycologia*, 104:121– 137.

PINHO, D. B., J. H. JUNIOR, A. L. FIRMINO, B. T. H JUNIOR, E. S.G. MIZUBUTI, O. L. PEREIRA. 2014. Reappraisal of the black mildews (Meliolales) on *Hevea brasiliensis*. *Trop. Plant Pathol*. vol.39 (I): 089-094.

RODRÍGUEZ M. AND CAMINO M. 1986. Nuevos reportes de la familia *Meliolaceae* (Ascomycotina) en Cuba (I). *Revista del Jardín Botánico Nacional*, vol. 7 (II): 39-44.

SOARES WR & DIANESE JC. 2014. New Meliola species of Fabaceae hosts from the Brazilian Cerrado. *Mycol Progress*, 13:321-331.

URTIAGA, R. 1986. *Índice de Enfermedades en Plantas de Venezuela y Cuba*. 202 p.

WILBERT W. 1996. Fitoterapia Warao. Una Teoría Pneumica de Salud, La Enfermedad y la Terapia. Monografía N° 41. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Instituto Caribe de Antropología y Sociología. 655 pp.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria 41

ENERO-DICIEMBRE 2017

págs. 172—185

ASPECTOS FITOGEOGRÁFICOS Y ESTADO ACTUAL DE CONSERVACIÓN DE TRES ESPECIES DE *LEPIDAPLOA* (VERNONIEAE, ASTERACEAE) ENDÉMICAS DE VENEZUELA

PHYTOGEOGRAPHICAL ASPECTS AND CURRENT CONSERVATION STATUS THE THREE OF SPECIES THE *LEPIDAPLOA* (VERNONIEAE, ASTERACEAE) ENDEMIC OF VENEZUELA

por

CARMEN E. BENÍTEZ DE ROJAS[1]
WILLIAM A. GRANADA CHACÓN[1]

1 Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía.
Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela.
cbenitez22@gmail.com, agronomiaucv@gmail.com

RECIBIDO: octubre 19 de 2016 / **ACEPTADO:** junio 15 de 2017

RESUMEN

La distribución actual de tres especies, pertenecientes al género Lepidaploa (Asteraceae) de Venezuela fueron estudiadas: *Lepidaploa carachensis, L. imeriensis*, y *L. pari*; la primera, crece en la Ecorregión Bosques montanos andinos de Venezuela y el resto pertenece a la Ecorregión Selvas húmedas de alta montaña de la región Guayana. Finalmente se presenta para cada especie: distribución geográfica, rango altitudinal, hábitat, que incluye ecorregión y fitocenosis, descripción botánica, situación actual, herbarios de depósito y estado de conservación. Así mismo, se presentan mapas de distribución. Los resultados obtenidos establecen el carácter endémico de dichas especies. El estatus de conservación sugiere que *L. carachensis* y *L. Pari* pueden ser clasificadas como especies en peligro y *L. imeriensis* hasta hoy día, presenta el mejor estatus de conservación.

PALABRAS CLAVE: *Lepidaploa*, Asteraceae, endemismos, fitogeografía, estatus de conservación, Venezuela.

ABSTRACT

The actual distribution of three species belonging to the genus *Lepidaploa* (Asteraceae) from Venezuela, were studied *Lepidaploa carachensis, L. imeriensis* and *L. pari.* The first one habit Ecoregion Andean mountain forest of Venezuela and the rest are of the Ecoregion humid Andean high mountain forest of the Guayana Region. Finally, we summarized for each species distribution, altitudinal range Ecorigion, phytocoenosis, actual current situation and herbaria of deposited. The conservation status suggest that *L. carachensis* y *L. pari* can be classified as endangered species and *L. imeriensis* to nowadays, has the best status of conservation.

KEY WORDS: *Lepidaploa*, Asteraceae, endemism, phytogeography, conservation status, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

Las regiones: Guayana, especialmente en sus áreas de la Gran Sabana, los Tepúies y la Amazonía, así como la Cordillera de Mérida; poseen una flora rica dentro del grupo de especies de las Equisetopsida C. Agardh (Chase & Reveal 2009), incluyendo numerosos endemismos específicos, muchos de los cuales son clasificados como raros, ya que por su naturaleza son poco conocidos y de distribución reducida. El género *Lepidaploa* (Cass.) Cass., en Venezuela posee *ca.* 20 especies (Badillo *et al.* 2008), principalmente presentes en selvas nubladas, páramos, subpáramos, así como herbazales sufruticosos; incluye entre sus miembros tres especies de distribución restringida a saber: *Lepidaploa imeriensis* (V. M. Badillo) Pruski y *L. pari* (M. V. Badillo) H. Rob., ambas correspondientes a la Ecorregión Selvas húmedas de alta montaña de la Guayana; y *L. carachensis* (V. M. Badillo) H. Rob., en la Ecorregión Bosques montanos andinos. Debido la alteración de los hábitats de las especies estudiadas, aunado a la distribución restringida de las mismas, presentes en una única localidad y/o poco muestreadas, es perentorio evaluar su distribución actual. Con base en la revisión de especímenes del herbario, consulta de la literatura especializada y las observaciones en campo, en el presente trabajo se reseña para cada una de las especies estudiadas: forma biológica, descripción morfológica, distribución geográfica, rango altitudinal, hábitat, y algunos aspectos ecológicos como el sustrato de crecimiento; con la finalidad de establecer sus posibles grados de amenaza y estado de conservación actual. También se presentan mapas de distribución, incluyéndose Ecorregión, formación vegetal (Fitocenosis) y Área Bajo Régimen de Administración Especial, mencionadas en lo sucesivo como ABRAE (República Bolivariana de Venezuela 2006). De esta manera se documenta la distribución actual de las especies, con el objetivo de sistematizar información que contribuya a la conservación de estos recursos biológicos.

MATERIALES Y MÉTODO

Para la elaboración de este trabajo se han utilizado los especímenes depositados en los herbarios LAM, MO, MY, PORT, US y VEN (Thiers, 2017) (CUADRO 1); se consultó literatura especializada, el mapa de vegetación de Venezuela (Huber & Alarcón 1988), así como la zonificación basada en Ecorregiones (Olsen & Dinerstein 2002 y Palminteri & Powell 2001), en las que se reseña el estatus estimado de conservación de las distintas especies.

Se analizó la especificidad del hábitat, distribución geográfica, formas de vida, tipo de comunidad vegetal definida como fitocenosis, estás últimas siguiendo el criterio de Huber y Alarcón (1988) y enumeradas entre paréntesis. Con base en coordenadas geográficas se elaboraron mapas de distribución de las especies, indicando: provincias y regiones fitogeográficas (Huber 1994). Se tabuló comparativamente los endemismos de *Lepidaploa* presentes en las regiones próximas a Venezuela, incluyendo Ecuador (Jørgensen & León-Yánez 1999), las Guianas (Hollowell *et al.* 2001), Perú (Brako & Zarucchi 1993) y norte de Brasil (Dematteis & Almeida 2012), considerando número de especies, nombres botánicos y porcentaje de endemismos para cada región.

CUADRO 1. *Exiccata* examinadas.

ESPECIE	COLECTOR(ES)	NÚMERO DE COLECCIÓN	FECHA DE COLECCIÓN (DÍA/MES/AÑO)	HERBARIO DE DEPÓSITO
Lepidaploa carachensis	Badillo, V. M.	6868	16/II/1975	MY, US, VEN.
	Benítez de Rojas, C.	1913	3/IX/1975	MY, US.
	Rivero, R & W. Díaz	1375	01/XI/1987	MY, PORT, VEN.
Lepidaploa imeriensis	Funk, V.A.	6704	23/I/1985	MO, MY, US, VEN.
	Kral, R.	6704	29/XI/1984	MO, MY, US, VEN.
	Nee, M.	30723	2/II/1985	MY, NY.
Lepidaploa pari	Badillo, V. M. & J. de Dios Holmquist	6210	12/VI/1973	MY.
	Benítez de Rojas, C. & C. Moreno	7046	25/III/2006	MY, US.
	Cardona, F.	2640	I/1949	US.
	Huber, O. & E. Medina	8553	11/XII/1983	MY, MYF.
	Keeley S. C. & J. E. Kelley	4327	14/XII/1984	MY, US.
	Keeley S. C. & J. E. Kelley	4363	14/XII/1984	MY, US.
	Keeley S. C. & J. E. Kelley	4366	14/XII/1984	MY, US.
	Keeley S. C. & J. E. Kelley	4334	14/XII/1984	MY, US.
	Keeley S. C. & J. E. Kelley	4358	14/XII/1984	MY, US.
	Keeley S. C. & J. E. Kelley	4328	14/XII/1984	MY, US.
	Keeley S. C., J. E. Kelley & O. Huber	4325	14/XII/1984	MY, PORT.
	Keeley S. C., J. E. Keeley & O. Huber	4367	14/XII/1984	MY, US.
	Steyermark, J.	58613	25/IX/1944	MO, MY, VEN.
	Steyermark, J. & S. Nielsen	696	25/IV/1960	VEN.

RESULTADOS

DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO *LEPIDAPLOA* (CASS.) CASS. DICT. SCI. NAT. 36: 20. 1825.

Se ubica en la tribu Vernonieae Cass. 1819, Subtribu Vernoniinae Cass. ex Dumort 1829 (Robinson 2007), está caracterizado por contener hierbas o subarbustos erectos, ramificados anuales, a veces trepadoras irregulares apoyándose de cualquier sostén o recostadizas; hojas alternas sésiles o pecioladas con lámina simple. Las sinflorescéncias (capítulos) homógamas, discoideas con 8-35 flores sésiles o casi así, solitarias o en cimas axilares y aquí con pequeño pedicelo en las ramas cimosas; involucro campanulado con filarios persistentes y en 3-6 series. Flores bisexuales con corola actinomorfa estrecho campanuladas, violeta o blancas; 5 estambres con anteras connadas; ovario ínfero con estilo hispídulo, terminado en dos ramas estigmáticas. Fruto un aquenio angular (cipsela) con 8-10 bandas longitudinales; papus biseriado, la serie interna con cerdas y la externa con escamas cortas e irregulares. Es un género Neotropical con cerca de 120 especies.

Para cada especie se proporciona una ficha descriptiva con nombre y publicación original, distribución geográfica, rango altitudinal de ocurrencia, Ecorregión, Fitocenosis, descripción morfológica, situación actual, herbario de depósito y estado de conservación. Así mismo se discute su grado de amenaza.

LEPIDAPLOA CARACHENSIS (V. M. Badillo) H. Rob. Proc. Biol. Soc. Washington 103(4): 487. 1990.

Distribución geográfica: restringida al estado Trujillo, municipio Carache, en la vía hacia el páramo de Turmal, y en la Gran Parada arriba de Carache (*FIGURAS 1 y 3*).

Rango altitudinal: 1.500-2.400 msnm.

Ecorregión: Bosques montanos andinos de Venezuela - ERR22 (Palminteri & Powel 2001).

Fitocenosis: Bosques ombrófilos submontanos/montanos siempreverdes (88); Bosques ombrófilos montanos siempreverdes (89) (Huber & Alarcón 1988); en el ecotono de las formaciones vegetales antes mencionadas.

Descripción botánica: arbusto con ramas trepadoras recostadizas, folioso, densamente pubescente especialmente en las partes jóvenes. Sinflorescencias en panículas terminales con ramas cortas. Capítulos numerosos, sésiles, involucro 3-4 seriado; filarios con costilla dorsal. Flores en número de 10-13 con corolas casi glabras o sólo ligeramente pilosas en el ápice de los lóbulos, violáceas. Cipselas seríceas; papus 2-seriado, la serie externa con 20-25 escamas lineares, la serie interna con 28-36 cerdas subfiliformes (*FIGURA 2*).

Situación actual: según lo diagnosticado en campo, la mayor amenaza a la cual está expuesta esta especie es debida a la destrucción de su hábitat, para el desarrollo de actividades agrícolas, emplazamientos urbanos y actividades forestales.

Herbarios de depósito: MY, PORT, US, VEN.

Estado de conservación: Los especímenes hasta ahora examinados no proceden de alguna región protegida con figura de ABRAE; sin embargo, las localidades de colección de estos, se ubican en zonas próximas a los linderos del Parque Nacional Dinira, por lo cual existe posibilidad de que poblaciones de esta especie podrían ser reportadas en el futuro para dicha ABRAE.

LEPIDAPLOA IMERIENSIS (V. M. Badillo) Pruski. Fl. Venez. Guayana 3:305. 1997.

Distribución geográfica: Localizada en el estado Amazonas, municipio Río Negro, circunscrita a las siguientes localidades: a lo largo del rio Caño Gardner en el ápice del valle, cerro La Neblina, Pico Phelps en selvas nubladas y sobre bancos arenosos de río (*FIGURAS 1 y 5*).

Rango altitudinal: 1.725-2.100 msnm.

Ecorregión: Selvas húmedas de alta montaña de la Guayana-45 (Olson & Dinerstein 2002).

Fitocenosis: Bosques ombrófilos submontanos siempreverdes (149) (Huber y Alarcón 1988).

Descripción botánica: Fruticosa ramificada en su parte superior, tallos costulados con pubescencia ferruginea. Sinflorescencia en cimas escorpioideas poco ramificadas, distantes, foliosas. Capítulos solitarios; involucro 3-4

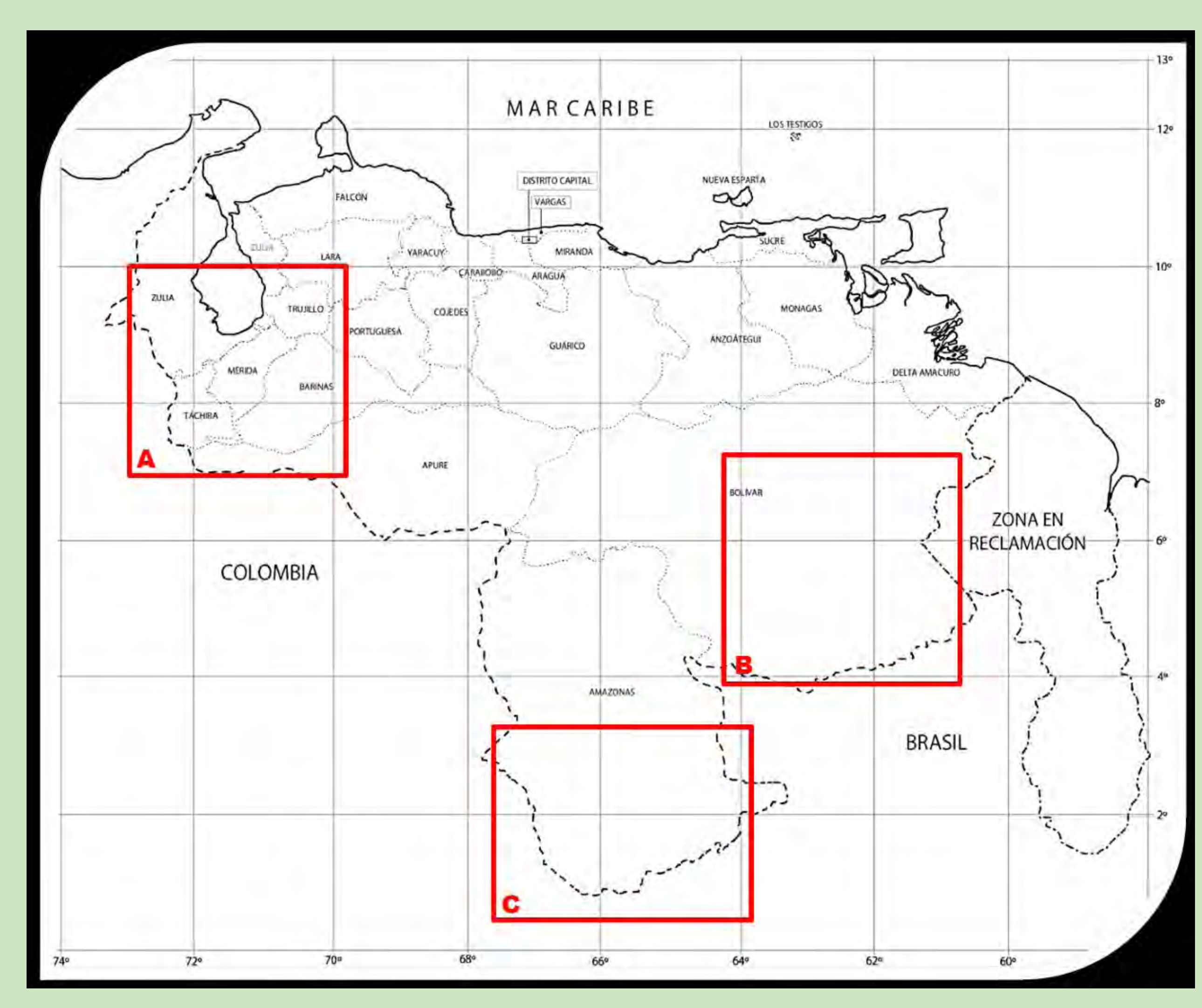


FIGURA 1. Ubicación en Venezuela de las áreas de distribución de: [A] *Lepidaploa carachensis* (estado Trujillo), [B] *L. imeriensis* (estado Amazonas) y [C] *L. pari* (estado Bolívar).



FIGURA 2. *Lepidaploa carachensis*.



FIGURA 4. *Lepidaploa imeriensis*.

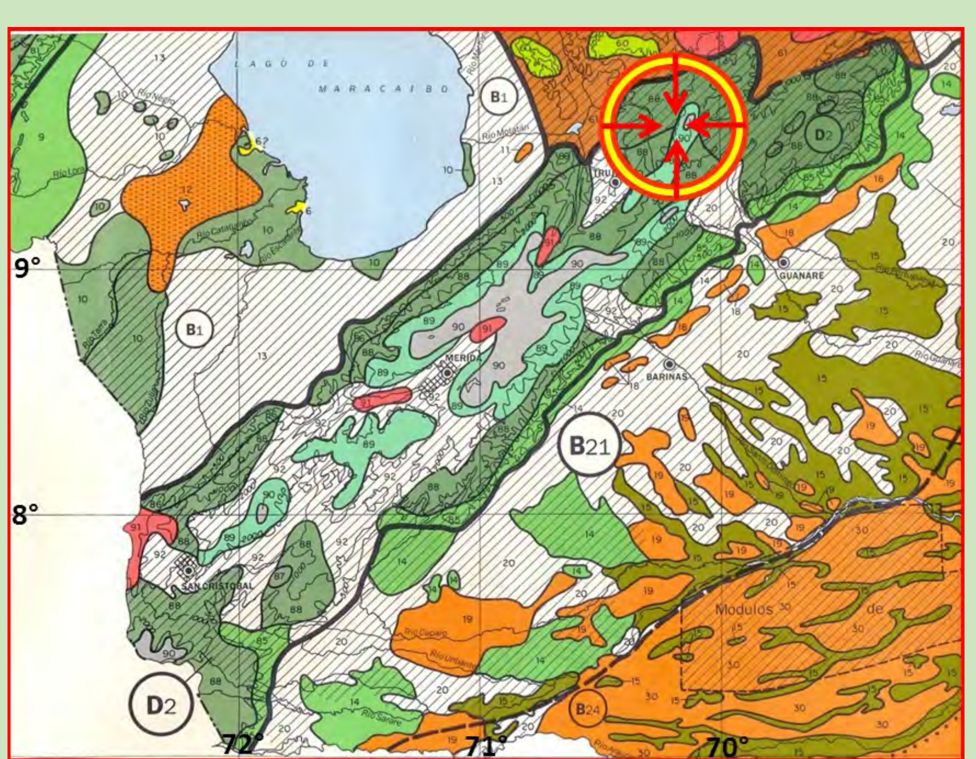


FIGURA 3. Mapa de la distribución de *L. carachensis*.

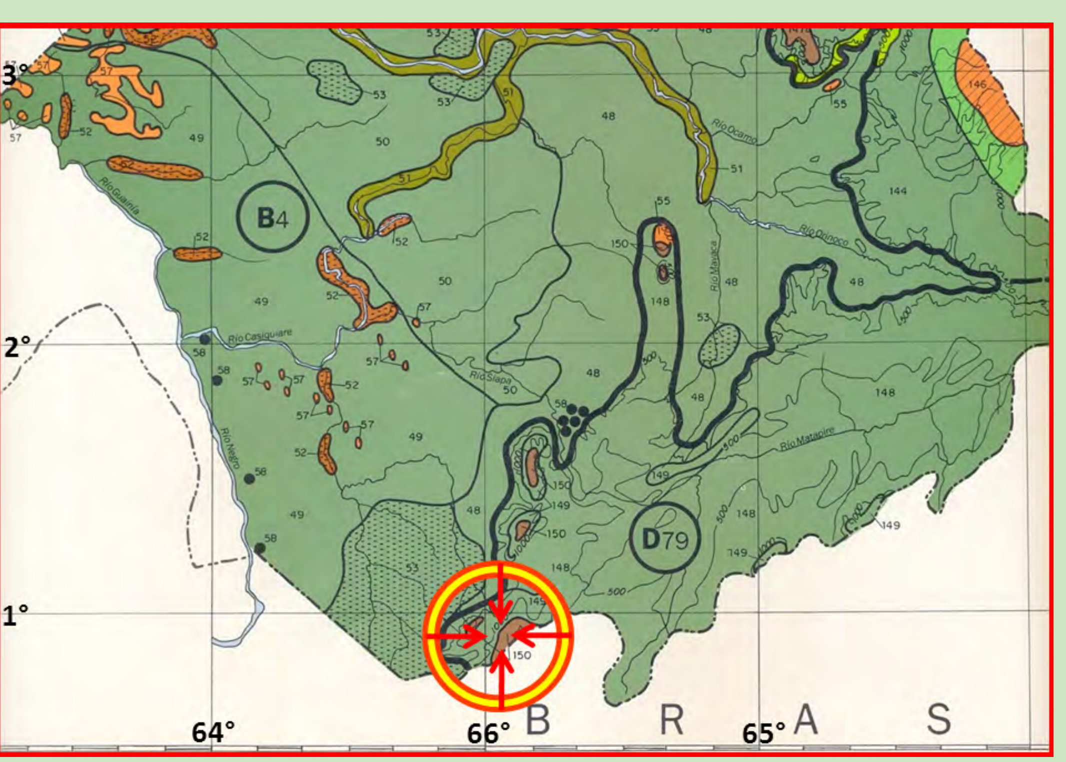


FIGURA 5. Mapa de la distribución de *L. imeriensis*.

seriado; filarios 3-4 muy agudos y laxo-pilosos. Flores en número de 38-40. Cipselas hirsutas, con glándulas oscuras a lo largo de las costillas, papus 2-seriado, la serie externa escamiforme de 1,2 mm de largo, la serie interna con cerdas de 8 mm de largo (*FIGURA 4*).

Situación actual: Por su distribución en localidades recónditas de difícil acceso, consideramos que actualmente la especie no se categoriza con algún grado de amenaza.

Herbarios de depósito: MO, MY, US, VEN.

Estado de conservación: Esta especie actualmente se encuentra bajo protección por ubicarse en un área relativamente intacta, protegida bajo la figura del Parque Nacional Serranía de La Neblina; y que a su vez constituye en parte, la zona núcleo de la Reserva de Biósfera Alto Orinoco-Casiquiare (República de Venezuela 1991).

LEPIDAPLOA PARI (V. M. Badillo) H. Rob. Proc. Biol. Soc. Washington 101: 945. 1988.

Distribución geográfica: Presente sólo en el estado Bolívar, municipios Piar y Gran Sabana, en las siguientes localidades del Macizo de Chimantá: Kurún-tepui, Auyan-tepui y Venado-tepui; y del Macizo de Roraima, en colinas del lado suroeste (*FIGURAS 1 y 7*).

Rango altitudinal: 970-1.600 msnm.

Ecorregión: Selvas húmedas de alta montaña de la Guayana-45 (Olson & Dinerstein 2002).

Fitocenosis: Arbustales ombrófilos esclerófilos siempreverdes (124); Vegetación herbáceo-arbustiva alto-tepuiana (126) (Huber & Alarcón 1988).

Descripción botánica: Fruticosa erecta ramas surcadas y con pelos malpigiáceos abundantes en las ramas jóvenes. Sinflorescencias sésiles, solitarias o de 2-3, cimoso-escorpioideas. Capítulos de 22 flores, involucro 4-5 seriado. Corola con los lóbulos pilosos en el dorso. Cipselas pilosas y especialmente glandulosas, papus 2-seriado, serie externa con escamas de 1-1,5 mm de largo, la serie interna con aristas de 4,0 mm de largo (*FIGURA 6*).

Situación actual: Aún cuando las poblaciones conocidas de esta especie se presentan en dos ABRAE, existe para ellas una evidente presión por asentamientos mineros, agricultura de subsistencia y/o extracción de recursos forestales (GFW 2002).

Herbarios de depósito: LAM, MO, MY, MYF, PORT, US, VEN.

Estado de conservación: Este endemismo está protegido en sus lugares de presencia (tepúis), que constituyen ABRAE dentro de la figura de Monumentos Naturales; en este mismo sentido su distribución comprende áreas de la Reserva Forestal La Paragua, la Zona Protectora con categoría de manejo Reserva de Biósfera IUCN (sur del estado Bolívar) y localidades del altiplano del Parque Nacional Canaima.

DISCUSIÓN

Los endemismos de *Lepidaploa* aquí registrados, han sido relacionados con aquellos presentes en áreas geográficas próximas a Venezuela; con la finalidad de establecer la relación porcentual de ellos con la totalidad de las especies hasta ahora conocidas de este género (*CUADRO 2*).



FIGURA 6. *Lepidaploa pari.*

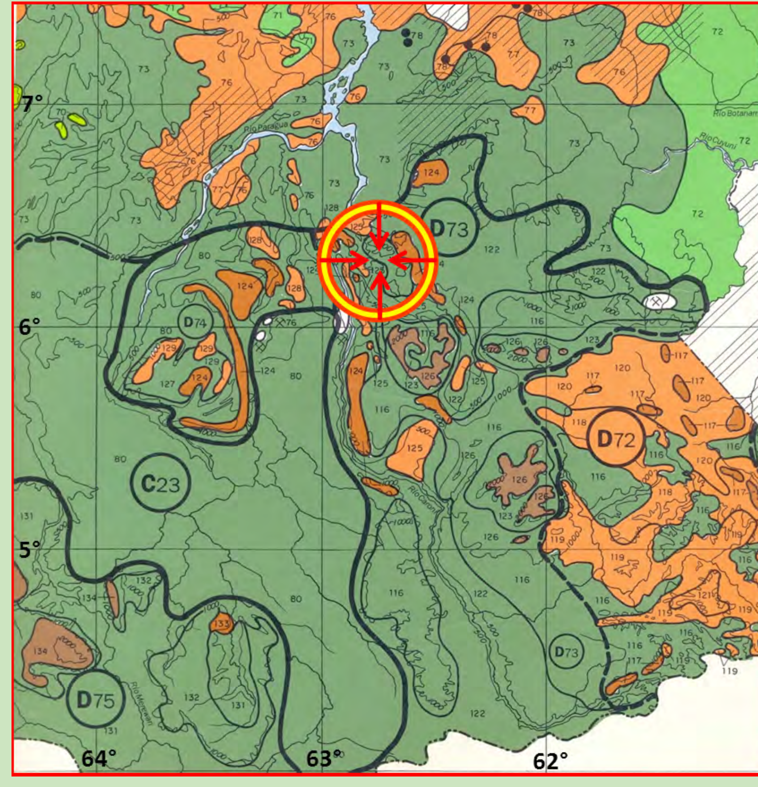


FIGURA 7. Mapa de la distribución de *L. pari.*

CUADRO 2. Composición comparativa de las especies endémicas de *Lepidaploa* para Brasil (estados al norte), Ecuador, Guyana, Perú y Venezuela.

PAÍS / REGIÓN	N° TOTAL DE *SPP. LEPIDAPLOA* EN LA FLORA RESPECTIVA	ESPECIES ENDÉMICAS	% DE ENDEMISMOS *LEPIDAPLOA*
Brasil, Estados: Amazonas, Roraima, Amapa y Para.	**50** (Dematteis & Almeida 2015)	*L. araujoa* (H. Rob) H. Rob. *L. arenaria* (Mart. ex DC.) H. Rob. *L. cleocalderonae* (H. Rob) H. Rob. *L. grisea* (Baker) H. Rob. *L. muricata* (DC.) H. Rob. *L. silvae* (H. Rob) H. Rob.	12
Ecuador	**4** (Jørgensen & León-Yanez 1999)	*L. violiceps* (H. Rob.) H. Rob.	25
Guyana	**10** (Hollowell *et al*. 2001)	*L. chrysotricha* (Alexander) H. Rob.	10
Perú	**10** (Brako & Zarucchi 1993)	*L. ferreyrae* (H. Rob.) H. Rob. *L. fieldiana* (Gleason) H. Rob.	20
Venezuela	**20** (Badillo *et al*. 2008)	*L. carachensis* (V. M. Badillo) H. Rob. *L. imeriensis* (V. M. Badillo) Pruski *L. pari* (V. M. Badillo) H. Rob.	15

Los taxones específicos considerados en este trabajo fueron reconocidas como especies endémicas de Venezuela, según: inicialmente *Vernonia pari* (*L. pari*) por Aristeguieta (1964); posteriormente Pruski (1997), corrobora así a *L. pari*, al igual que a *L. imeriensis;* y para finales de la década del presente siglo (XXI), Badillo *et al.* (2008) indican el endemismo de las tres especies. En tal sentido, la revisión de herbario, conjuntamente con las exploraciones de campo realizadas, confirmó la distribución geográfica restringida de estas y en consecuencia su carácter endémico.

Respecto a *L. imeriensis*, por su ubicación en lugares con nula intervención antrópica, consideramos que su presencia al menos, a corto plazo, no reviste amenaza. Sin embargo, Nogué I Bosch (2009) alegó que los cambios climáticos en tierras de altas montañas de la Guayana, estarían afectando la distribución actual de la especie; incluso indicó qué *L. imeriensis*, estaría amenazada con categoría IUCN: EN (especie en peligro).

Por otra parte, aun cuando las tres especies estudiadas, no fueron reseñadas con algún grado de amenaza en el Libro Rojo de la Flora Venezolana (Llamozas *et al.* 2003), en nuestro estudio se pudo constatar en campo, la amenaza inminente a la que está expuesta *L. carachensis*, debido a la alteración de sus hábitats para el desarrollo de actividades agrícolas, emplazamientos urbanos y actividades forestales. Aunado a lo anterior, y a pesar que las regiones andinas de la cordillera de Mérida han sido exploradas botánicamente y de forma continua, desde su hallazgo como especie nueva en el año 1.975, sólo son conocidas cuatro colecciones (dos en 1975 y otras dos en 1987).

En el caso de *L. pari*, este endemismo a pesar de encontrase en un grado alto de protección en sus lugares de presencia (Tepúis), su permanencia pudiese estar amenazada por el cambio climático global.

Las colecciones botánicas de las tres especies, datan de entre 1.944 y 2008, evidenciándose que el registro de herbario es extremadamente reducido, si notamos que en un periodo de 70 años, sólo se han catalogado 21 *exiccata* (**GRÁFICO 1**).

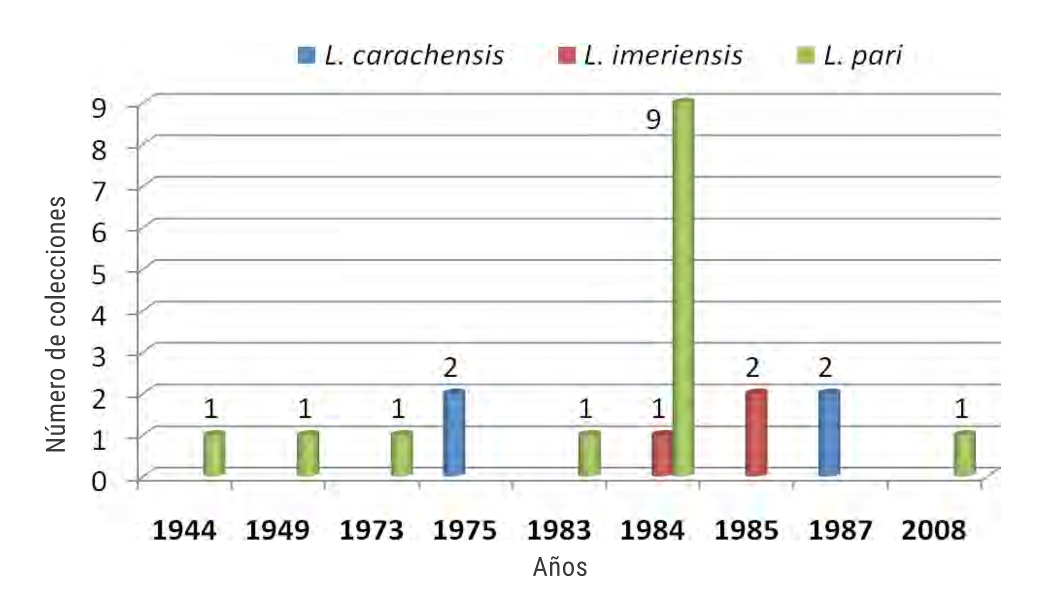


GRÁFICO 1. Relación numérica de colecciones botánicas por año de las especies de *Lepidaploa* endémicas de Venezuela.

CONCLUSIONES

- *Lepidaploa carachensis*, está propensa a ser categorizada en el futuro cercano, como especie con algún grado de amenaza.
- *Lepidaploa pari*, está en situación similar a *L. carachensis*, a pesar de que sus hábitats ocurren en figuras de ABRAE.
- *Lepidaploa imeriensis*, representa la especie con mejor estado y situación actual de conservación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARISTEGUIETA, L. 1964. Compositae. Volumen X, Parte primera. En: Flora de Venezuela (Lasser, T., ed.) Instituto Botánico. Dirección de Recursos Naturales Renovables. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas. 483.

BADILLO, V., S. DÍAZ-PIEDRAHITA & C. E. BENÍTEZ DE ROJAS. 2008. Asteraceae. En: Nuevo Catálogo de la Flora Vascular de Venezuela. (Hockhe, O., P. Berry & O. Huber, eds.). Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. pp. 226-265.

BRAKO, L. & J. L. ZARUCCHI. 1993. Asteraceae. In: Catalogue of Flowering plants and Gymnosperms of Peru. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Garden. No 55. pp. 103-108.

CHASEL, M & J. REVEAL. 2009. A phylogenetic classification of the land plans to accompany APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161:122-127.

DEMATTEIS, M. & G. ALMEIDA. 2012. *Lepidaploa* (Asteraceae). Em: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012fb109590

HOLLOWELL, T., P. BERRY, V. FUNK, & C. KELLOFF. 2001. Preliminary Checklist of the plants of the Guiana Schield (Venezuela: Amazonas, Bolívar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana) Volume 1: Acanthaceae-Lythraceae. Centre for the Study of Biological Diversity, University of Guyana, Georgetown, Guyana. 23 p.

HUBER, O. 1994. Recent advances in the Phytogeography of the Guayana Region, South America. Mém. Soc, Biogéogr. (3 sème) serie IV: 53-63.

HUBER, O. & C. ALARCÓN. 1988. Mapa de Vegetación de Venezuela. Escala 1:2.000.000. MARNR, The Nature Conservancy, Caracas.

JØRGENSEN, P. M. & S. LEÓN-YÁNEZ, (eds.). 1999. Catalogue of the Vascular Plantas of Ecuador. Monographs in Systematic Botany, Volumen 75: 260-314.

LLAMOZAS S, R. DUNO, W. MEIER, R. RIINA., F. STAUFER, O. HUBER & R. ORTIZ. 2003. Libro Rojo de la Flora Venezolana. PROVITA, Fundación POLAR, Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser, Conservación Internacional. 555 p.

NOGUÉ I BOSCH, S. 2009. Global warming and biodiversity conservation in the Guayana Highlands: paleoecology biogeography and GIS modeling. Tesi Doctorae. Universidad autónoma de Barcelona. España. 188 p.

OBSERVATORIO MUNDIAL DE BOSQUES (GFW). 2002. Situación de los bosques en Venezuela. Fundación POLAR. Caracas, Venezuela. 132 p.

OLSON D. & E. DINERSTEIN. 2002. The Global 200: Priority ecoregions for global conservation. Ann. of the Missouri Botanical Gardens 89(2): 199-224.

PALMINTERI, S. & G, POWELL (eds,). 2001. Visión de la Biodiversidad de los Andes del Norte: World Wildlife Fund US, Fundación para la Defensa de la Naturaleza (FUDENA) y Fundación NATURA. Cali, Colombia. 38 p.

PRUSKI, J. 1997. Asteraceae. In: Flora of the Venezuelan Guayana. Volumen 3. Araliaceae-Cactaceae (Steyermark, J., E. Berry & B. Holst, eds.). Missouri Botanical Garden. St. Louis, Missouri, U.S.A. pp. 177-393.

REPÚBLICA DE VENEZUELA. 1991. Decreto N° 1635. *Se declara Reserva de Biosfera con el nombre de "Alto Orinoco-Casiquiare"*. Gaceta Oficial Nº 34767 del 01/08/1991.

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA. 2006. Ley Orgánica para la Planificación y Gestión de la Ordenación del Territorio. Gaceta Oficial N° 38388 del 01/03/2006.

ROBINSON, H. 2007. Tribe Vernonieae. In: The families and genera of vascular plants, vol 8. Asterales. (Kadereit, J. & C. Jeffrey eds.). Springer, Berlin, Germany. pp. 165-192.

THIERS, B. [continuously updated, consulted 2017]. Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, http:sweetgum.nybg.org/ih.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

1. **PITTIERIA** es la revista del Departamento de Botánica y Ciencias Básicas de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela) y publica artículos científicos y notas técnicas de todos los campos de la botánica; haciendo énfasis en investigaciones realizadas en Venezuela. Es una publicación editada en formato impreso y digital; en este último caso es de acceso libre a través de la dirección online **http://www.saber.ula.ve/pittieria/**
2. Los artículos y notas técnicas recibidas serán sometidos a un proceso de evaluación por parte del Comité Editorial y de dos o más árbitros seleccionados entre personal especializado en el área del cual trate el artículo o la nota técnica correspondiente. Sólo serán publicados aquellos artículos o notas que cumplan con lo exigido en las instrucciones de autor de la revista y que aprueben el proceso de evaluación realizado por los consultores de arbitraje designados.
3. El comité editorial se reserva el derecho de hacer las correcciones y modificaciones necesarias al material enviado para publicación posterior a su evaluación y las corrección por parte del autor o autores, con el fin de adecuar formatos, estilos o grafías erradas; sin embargo, PITTIERIA NO SE RESPONSABILIZA DE ERRORES NOMENCLATURALES, GRAMATICALES Y DE CONSISTENCIA ENTRE CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS, SIENDO TODOS ESTOS LA RESPONSABILIDAD EXCLUSIVA DEL AUTOR O AUTORES DE LOS CONTENIDOS AQUÍ PUBLICADOS.
4. Los artículos deben ser el resultado de investigaciones originales cuyos resultados constituyan aportes valiosos en el campo de la botánica.
5. Las notas técnicas incluyen notas de investigación, ensayos y/o revisiones de literatura enfocados hacia el campo de la botánica.
6. El proceso de recepción de trabajos se realiza en tres fases: **(A)** Envío del trabajo en formato digital o impreso para ser sometido a revisión por parte del Comité Editorial con el fin de constatar que el trabajo cumple con los requisitos exigidos por la revista en las instrucciones de autor. Una vez hecha la revisión, se le envía nuevamente a el(los) autor(es) con el fin de hacer las correcciones consideradas pertinentes por parte del Comité Editorial. **(B)** Envío, en formato impreso y digital, de tres ejemplares del trabajo con sus respectivas figuras y cuadros para ser sometido a proceso de arbitraje. Una vez recibidas las evaluaciones de los árbitros, los resultados de la misma serán enviadas a el(los) autor (es). **(C)** Envío, en un plazo no mayor a seis semanas después de haber sido remitido el resultado de la evaluación, de la versión definitiva del trabajo con las modificaciones sugeridas en el proceso de arbitraje. Una vez constatado que el trabajo cumple con las exigencias de la revista, se procederá a la aceptación del mismo para ser publicado en el número siguiente de la revista.
7. El texto debe ser escrito preferiblemente en formato .doc (Word), en hojas tamaño carta, con márgenes de 2,5 cm a cada lado, escritas con espaciamiento de 1,5 líneas y una extensión máxima de 40 páginas, incluyendo cuadros y figuras.
8. Los artículos deben llevar la siguiente estructura: Titulo, titulo en inglés, autor(es), dirección institucional, resumen (no mayor de 250 palabras), palabras clave (entre 5 y 10), abstract (no mayor de 250 palabras), keywords (entre 5 y 10), introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones, agradecmientos (opcional), referencias bibliográficas. Los títulos de cada sección se escribirán en letras negritas, sólo la primera letra en mayúsculas y alineados a la izquierda.
9. La información institucional se presentará colocando el nombre de la dependencia a la cual está adscrito el autor, institución, ciudad, país y dirección de contacto electrónica (por ejemplo: Departamento de Botánica y Ciencias Básica. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. login@dominioinstitucional). En caso de más de un autor, cada uno será identificado con un superíndice numérico al lado derecho del apellido y la información institucional debe iniciarse colocando el valor del superíndice asignado.
10. El titulo no debe exceder de 16 palabras, se escribirá en letras mayúsculas y negritas, Times New Roman, tamaño 14 y centrado. El titulo en inglés se escribirá en letras Times New Roman 12, en negritas y con sólo la primera letra en mayúscula. Para el resto del texto se utilizará letra Times New Roman 12, excepto la información institucional la cual será escrita en Times New Roman 10. En el caso de los nombres científicos se utilizarán letras cursivas.
11. Unidades de medidas y símbolos. Se utilizará el sistema métrico decimal y el sistema internacional de unidades (SI). Los símbolos de unidades de medida no llevan punto y están separados por un espacio de los valores numéricos que le anteceden. Cuando las unidades de medida se escriben con su nombre completo se deben emplear letras minúsculas (centímetro, metro, litro...).
12. En el caso de presentarse claves dicotómicas, por razones de edición y montaje, estas deben ser de tipo paralelo o pareadas, nunca dentadas. DE NO CUMPLIRSE ESTAS CONDICIONES, SE RESERVA EL DERECHO DE ACEPTACIÓN DEL MATERIAL.
13. Cada cuadro y figura deben ser presentados en archivos individuales y deben estar correctamente identificados. En el caso de imágenes digitales, se requiere que sean enviadas en formato .jpg, .png o .tif, con una resolución mínima de 300 dpi y no menores en ninguna de sus dimensiones a 2.000 pixels/pulgada. Adicionalmente, cualquier figura o cuadro que se presente debe estar citado en el texto. En caso de ilustraciones de origen vectorial (aplicaciones CAD o similares) se requiere sean enviadas en su formato original (por ejemplo, .dwg, .ai). DE NO CUMPLIRSE ESTAS CONDICIONES, SE RESERVA EL DERECHO DE ACEPTACIÓN DEL MATERIAL Y EN TODO CASO LA REVISTA NO SE HACE RESPONSABLE DE LA CALIDAD DE LA REPRODUCCIÓN FINAL DE LAS ILUSTRACIONES Y FOTOGRAFÍAS.
14. Las citas bibliográficas en el texto se regirán por el siguiente esquema: **(A)** Un autor: Contreras (2009) o (Contreras, 2009), dependiendo del contexto donde se encuentre ubicada. **(B)** Dos autores: Contreras & Hernández (2009) o (Contreras & Hernández, 2009), dependiendo del contexto donde se encuentre ubicada. **(C)** Más de dos autores: Contreras *et al.* (2009) o (Contreras *et al.*, 2009), dependiendo del contexto donde se encuentre ubicada. Cuando dos o más citas aparecen seguidas, deberían listarse desde la más reciente a la más antigua.
15. La presentación de las referencias bibliográficas se hará por orden alfabético y de acuerdo al siguiente esquema:

(A) Libros:

VELÁSQUEZ, J. 1994. *Plantas acuáticas vasculares de Venezuela*. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 992 p.

(B) Capítulos de libros:

HUBER, O. 1995a. History of Botanical Explorations. In: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Volume 1. Introduction (P. E. Berry, B. K. Holst and K. Yatskievych, eds.), pp. 63-96. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MI, USA.

(C) Artículos de revistas:

STERN, W. 1957. Guide to institutional wood collections. *Tropical Woods* 106: 1-29.

(D) Tesis o trabajos de ascenso:

PÉREZ, A. 1969. *Estructura anatómica de 37 maderas de la Guayana Venezolana y clave para su identificación*. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida, Venezuela. 122 p. (Trabajo de ascenso).

(E) Publicaciones on line:

WILSON, H. D. 1996. *Field Systematic Botany: Pteridophytes (Ferns and Allies) An Overview*. http://www.csdl.tamu.edu/FLORA/fsb/fsbfern1.html (Jul. 03, 1996). Department of Biology Herbarium, Texas A&M University. Texas, USA.

INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS

1. **PITTIERIA** is the journal of the Departamento de Botánica y Ciencias Básicas of the Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales of the Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; it is intended to serve as a publishing media for the institution members but open to external researchers work. The journal publishes scientific papers and technical notes regarding any botany related field, with emphasis on the research carried on Venezuela. It is annual in periodicity and published in either printed and digital formats, the last one of free access at **http://www.saber.ula.ve/pittieria/**
2. Submitted papers and notes are subject to evaluation by the Editorial Committee plus two or more specialists in the field of the works. Only those works that fulfill the journal requirements and pass the evaluation process will be published.
3. The editorial committee holds the rights to correct and modify according to necessity all the submitted material, after the review process if formatting, styles, and writing defects are found; nonetheless PITTIERIA IS NO RESPONSIBLE OF NOMENCLATURAL MISSPELLINGS, GRAMMAR AND CONSISTENCY ERRORS BETWEEN CITATIONS AND THEIR REFERENCES, THESE BEING SOLELY THE AUTHOR OR AUTHORS RESPONSIBILITY.
4. Papers must be the outcome of original research which results constitute a valuable contribution in the field of botany.
5. Technical notes are short communications, essays and/or literature reviews focused on botany.
6. Admission of works occur in three stages: **(A)** submission of work either digitally (pittieria@ula.ve) or printed (Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Departamento de Botánica y Ciencias Básicas, Revista Pittieria, Mérida, Venezuela, Código Postal 5101) for evaluation by the Editorial Committee to verify it accomplishes the requirements of instructions. Once evaluated, it is returned to the author o authors for them to make any corrections suggested by the Editorial Committee. **(B)** Submission of three complete copies of the work, digitally or printed, for arbitration. Once received the results of arbitration, they will be sent back to the author(s). **(C)** Submission of the final version of work with the modifications suggested during arbitration, within the next six week after the results of arbitration were sent back. Once verified the accomplishment of all the requirements of the journal, the work will be accepted for publication on the next journal issue.
7. Text must be preferably submitted in .doc format (Word), American-letter size, margins of 2,5 cm each, line spacing of 1,5, and up to 40 pages in length including figures and tables.
8. Papers must have: Title in Spanish, an English title under the Spanish title, author(s) name(s), he, she, their institutional addresses, abstract in Spanish (up to 250 words), Spanish keywords (5 to 10), English abstract (up to250 words), English keywords (5 to 10), introduction, materials and methods, results, discussion of the results, conclusions, acknowledgements (optional), and references quoted. Each section titles must be in bold-face letters, only first letter capital, left justified.
9. Institutional information must be written according to the following: name of the author's adscription dependency, institution, city, country, and electronic contact information (as an example: Department of Botany, MRC 166, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D.C. 20013-7012, U.S.A. authorsname@institutionaldomain). When there is more than one author, each must be identified with a numeric super-index to the right side of the author's surname and the institutional information must start with the corresponding super-index.
10. Texts must be written in Times New Roman font. The title must not exceed 16 words, written in size 14 bold-face capital letters, centered. English title must be written in size 12 bold-face letters, only first letter capital, centered. Institutional information must be in plain letters, size 10. Remaining texts must be size 12. Scientific names must be written in italics.
11. Measurement units and symbols. The decimal metric system and the International Units System must be used. Units' names abbreviations do not end with period and have to be separated by a space from the value they identify. When the complete name of any unit is given it should be lower case (centimeter, meter, liter,...).
12. In the case of presenting dichotomic key, due to editing and layout issues, the keys must be of the linked type NOT nested. IF AUTHOR OR AUTHORS FAIL TO OBSERVE THESE CONDITIONS, THE EDITORS RESERVE THE RIGHT TO ACCEPT THE MATERIAL.
13. Each table and figure must be submitted as individual files correctly identified. In case of digital raster-type images, .jpg, .png or .tif are the preferred formats, with a resolution of 300 dpi, no less than 2.000 pixels/inch in size the smallest side. Vector illustrations (produce of CAD applications or similar) must be submitted in their original format (i.e. .dwg, .ai). Any figure or table that is submitted must be cited on the text. IF AUTHOR OR AUTHORS FAIL TO OBSERVE THESE CONDITIONS, THE EDITORS RESERVE THE RIGHT TO ACCEPT THE MATERIAL AND IN ANY CASE THE JOURNAL IS NOT RESPONSIBLE FOR THE QUALITY OF THE FINAL REPRODUCTION OF THE ILLUSTRATIONS AND PHOTOGRAPHS.
14. Citations on the text body must be according to the following: **(A)** One author: Contreras (2009) or (Contreras, 2009), depending on the context where located. **(B)** Two authors: Contreras & Hernández (2009) or (Contreras & Hernández, 2009), depending on the context where located. **(C)** More than two authors: Contreras *et al.* (2009) or (Contreras *et al.*, 2009), depending on the context where located. When two or more citations appear together, these should be listed from the recentmost to the oldermost one.
15. References will be shown in alphabetical order and according to the following:

(A) Books:

VELÁSQUEZ, J. 1994. *Plantas acuáticas vasculares de Venezuela*. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 992 p.

(B) Books chapters:

HUBER, O. 1995a. History of Botanical Explorations. In: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Volume 1. Introduction (P. E. Berry, B. K. Holst and K. Yatskievych, eds.), pp. 63-96. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MI, USA.

(C) Articles in magazines or journals:

STERN, W. 1957. Guide to institutional wood collections. *Tropical Woods* 106: 1-29.

(D) Thesis or similar:

PÉREZ, A. 1969. *Estructura anatómica de 37 maderas de la Guayana Venezolana y clave para su identificación*. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida, Venezuela. 122 p. (Trabajo de ascenso).

(E) On line publications:

WILSON, H. D. 1996. *Field Systematic Botany: Pteridophytes (Ferns and Allies) An Overview*. http://www.csdl.tamu.edu/FLORA/fsb/fsbfern1.html (Jul. 03, 1996). Department of Biology Herbarium, Texas A&M University. Texas, USA.

Pittieria

La Revista del Departamento de Botánica y Ciencias Básicas
Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes





ISSN[e] 2244-8888